Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici

Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Doc. Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.

Vypracoval:

Bc. Stanislav Škrobák

Lednice 2015

Zahradnická fakulta

Ústav vinohradnictví a vinařství
Akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatel :	**Bc. Stanislav Škrobák**
Studijní program:	Zahradnické inženýrství
Obor:	Řízení zahradnických technologií
Název tématu:	**Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné**
Rozsah práce:	45-50

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte dostupnou literaturu.
2. Výběr vhodného počtu experimentálních vzorků. Vypracování designu pokusu. Rozbory vybraných vzorků vín. Vyhodnocení naměřených dat vhodnou statistickou metodou.
3. Diskuse získaných výsledků. Vyvození závěrů a návrh případného návazného výzkumu.

Mendelova univerzita v Brně

Seznam odborné literatury:

1. BRANCO, J M. – RIBÉREAU-GAYON, P. Handbook of enology. : The chemistry of wine stabilization and treatments. volume 2. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103962, 97804700103722. URL: http://dx.doi.org/10.1002/0470010398.
2. RIBÉREAU-GAYON, P. – BRANCO, J M. Handbook of enology. : The microbiology of wine and vinifications. volume 1. Chichester, West Sussex, England. 2006. ISBN 97804700103651, 97804700103411. URL: http://dx.doi.org/10.1002/0470010363.
3. BAROŇ, M. Asimilovatelný dusík v moštech révy vinné aneb sypat či nesypat. *Vinařský obzor.* 2009. sv. 12, č. 1, s. 561–562. ISSN 1212-7884.
4. BAROŇ, M. *Vliv asimilovatelného dusíku na průběh fermentace moštů révy vinné : Effect of assimilable nitrogen on grape must fermentation : původní vědecká práce.* 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013. 54 s. ISBN 978-80-7375-713-7.
5. BAROŇ, M. Yeast Assimilable Nitrogen in South Moravian Grape Musts and its Effect on Acetic Acid Production during Fermentation. *Czech Journal of Food Sciences.* 2011. sv. 29, č. 6, s. 603–609. ISSN 1212-1800.

Datum zadání diplomové práce: prosinec 2013

Termín odevzdání diplomové práce: květen 2015

L. S.

Bc. Stanislav Škrobák
Autor práce

Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí práce

Zahradnická fakulta
Mendelova
univerzita
v Brně
-5-

Ing. Mojmír Baroň, Ph.D.
Vedoucí ústavu

doc. Ing. Robert Pokluda, Ph.D.
Děkan ZF MENDELU

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné“ vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.*

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:

.....

podpis

Poděkování

Rád bych poděkoval vedoucímu práce Doc. Ing. Mojmíru Baroňovi, Ph.D. za poskytnuté rady, informace a materiály, které byly velkým přínosem při zpracování této diplomové práce, a Ing. Michalu Kumštovi za pomoc při laboratorních měřeních. Děkuji také rodičům, přátelům a přítelkyni Michaele za podporu během celého studia.

Obsah

1. ÚVOD 7
2. CÍL PRÁCE 8
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED 9
   3.1. Dusíkaté sloučeniny 9
      3.1.1. Dusík a réva vinná 9
      3.1.2. Evoluce dusíkatých látek v hroznech 10
      3.1.3. Formy dusíku 11
   3.2. Asimilovatelný dusík 13
      3.2.1. Amonné ionty v hroznech a v moštu 15
      3.2.2. Aminokyseliny v hroznech a v moštu 15
   3.3. Biochemie zrání hroznů 16
      3.3.1. Morfologická stavba hroznu a bobule 16
      3.3.2. Vývojové změny bobulí 17
   3.4. Předfermentační macerace rmutu 19
      3.4.1. Přidání oxidu siřičitého 21
      3.4.2. Studená macerace 21
      3.4.3. Shrnutí senzorického vlivu 22
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 23
   4.1. Materiál 23
      4.1.1. Popis sledovaných odrůd 23
      4.1.2. Popis stanoviště 24
      4.1.3. Meteorologické zhodnocení 25
      4.1.4. Zpracování a odběr vzorků 25
      4.1.5. Metody měření 26
   4.2. Výsledky 28
5. DISKUZE 41
6. ZÁVĚR 43
7. SOUHRN 44
8. RESUME 44
9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 45
10. SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ 50

1. Úvod

Vinařství na Moravě prošlo v posledních letech rychlým vývojem. Kvalita a vybavenost vinařských podniků rychle stoupá a otevírají se nové možnosti v technologii výroby vína. Je důležité tuto novou moderní technologii správně využívat a produkovat tak stále kvalitnější vína, které budou dobrou konkurencí na našem i zahraničním trhu.

Jedním z kroků, které mohou zvýšit kvalitu vín, je využití předfermentační macerace rmutu ke zvýšení obsahu asimilovatelného dusíku a dalších obsahových látek v moštu. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae,* které ve víně provádějí alkoholovou fermentaci, potřebují asimilovatelný dusík k množení a k vlastní činnosti. Asimilovatelný dusík tedy hraje nepostradatelnou úlohu při výrobě vína. Dělí se na aminokyseliny a amonné ionty. Jeho obsah v hroznech je ovlivněn spoustou faktorů, jako hnojení, ročník, půda, ozelenění, podnož, staří vinice a další. Pokud mají hrozny nízký obsah asimilovatelného dusíku, dá se jeho obsah ovlivnit způsobem zpracování hroznů. Požadavky trhu směřují k tomu, aby byla vína vyrobena co nejpřirozeněji, pokud možno bez přidávání aditiv. Je tedy důležité, aby mošt před fermentací obsahoval dostatek asimilovatelného dusíku a odpadla tak nutnost umělého přidání amonných iontů, či jiného přípravku pro výživu kvasinek. Dalším důvodem, proč problematika asimilovatelného dusíku nabírá na významu, je změna klimatu, kdy se zvyšuje průměrná teplota a snižuje se průměrný roční úhrn srážek, a tím se snižuje obsah asimilovatelného dusíku v hroznech.

Už ve starší literatuře se uvádí, že odležení, případně i nakvášení některých bílých odrůd, je dobré provádět. A to zejména u odrůd, které mají slizovitou dužninu, jako je „Sylvánské zelené“ a „Neuburské“, aby se lépe uvolnil mošt a usnadnilo se lisování *(Dohnal, Kraus, Pátek, 1975).* I odrůdy jako „Tramín“ a „Sauvignon“ je vhodné naležet 12 – 24 hodin *(Hubáček, Kraus, 1982).* Z této literatury je zřejmé, že předfermentační macerace rmutu není v technologii výroby vína novinka, ale už dlouho používaný a osvědčený postup. Dle mého názoru se macerace používala dokonce už daleko dříve, než je datována v dostupná literatura. Při využití těchto dlouholetých zkušeností spolu se zapojením dnešní moderní dostupné technologie je nepochybně předfermantační macerace velmi perspektivní způsob zpracování hroznů, který má navíc velmi široké uplatnění jak u malovinařů, tak ve velkých vinařských firmách.

2. Cíl práce

Cílem práce je shromáždit a prostudovat literární zdroje pojednávající o asimilovatelném dusíku a předfermantační maceraci. Je popisován vliv předfermentační macerace na složení a kvalitu moštu.

V experimentální části je cílem práce vybrat vhodné množství experimentálních vzorků, vybrat vhodné odrůdy a vypracovat design pokusu. Dále je to rozbor vybraných vzorků moštů a vyhodnocení naměřených dat vhodnou statistickou metodou. Je předpokládáno, že se zvyšující se délkou macerace bude stoupat obsah asimilovatelného dusíku. U chlazené varianty je předpokládán pomalejší nárůst obsahu asimilovatelného dusíku. Tyto předpoklady jsou porovnány se skutečně naměřenými hodnotami a je vyvozen závěr.

3. Literární přehled

3.1. Dusíkaté sloučeniny

3.1.1. Dusík a réva vinná

Dusík je pro révu vinnou nejvýznamnějším makroprvkem. Je velmi důležitou součástí nukleových kyselin jakožto základu nesoucího genetickou informaci. Dále je stavební součástí chlorofylu, aminokyselin a bílkovin. Dusík má velký vliv na růst a výnos hroznů a je jednou z hlavních zásobních látek, které se ukládají v kořenech a starém dřevě. Požadavky révy vinné na dusík jsou vysoké. Pro jejich ukládání do podoby zásobních zdrojů je důležité období mezi sklizní a opadem listů. Z pohledu tvorby zásobních látek je důležité, aby byly hrozny sklizeny dříve, než opadnou nebo zmrznou listy *(Pavloušek, 2011).*

Dusík se v půdě nachází ve formě organické a anorganické. Hlízkové bakterie bobovitých rostlin, které jsou součástí ozelenění vinic, jsou schopny poutat také vzdušný dusík. Pohyblivost dusíku v půdě je vysoká, a proto často podléhá vymývání. Jeho koncentraci v révovém keři zvyšuje obsah fosforu a železa a snižuje obsah vápníku a hořčíku *(Pavloušek, 2011).*

Výživa dusíkem významně působí na kvalitu vína. Při jeho nedostatku je v hroznech nízký obsah volných aminokyselin (asimilovatelného dusíku) a zhoršuje se kvalita tvorby aromatických látek ve víně během kvašení. Při výrobě červených vín může nedostatek dusíku zhoršovat podmínky pro průběh jablečno-mléčné fermentace. Při nadbytku dusíku je kvašení bezproblémové, ale zvyšuje se tvorba vyšších alkoholů na úkor aromatických esterů. Tvoří se také bílkoviny způsobující bílkovinné zákaly. V extrémních případech se mohou tvořit biogenní aminy, které zapříčiňují alergie a negativně ovlivňují zdraví člověka *(Pavloušek, 2011).*

Jde v podstatě o aminokyseliny, amonné sloučeniny (NH_4^+ ionty) a sloučeniny bílkovin (proteiny). Představují látky důležité pro výživu kvasinek. Obsah dusíku v moštu se pohybuje mezi 0,2 - 1,4 $g.l^{-1}$ a postačuje většinou k tomu, aby mohlo proběhnout kvašení. Volné aminokyseliny jako prekurzory aromatických látek mají význam pro vznik kvasného buketu *(Steidl, 2002).*

Celkový obsah dusíku v půdách je rozdílný a kolísá nejčastěji v rozpětí 0,05 - 0,5%. V našich půdách je průměrný obsah 0,1 - 0,2 %, to znamená, že při průměrné hmotnosti ornice na hektar 3 000 000 kg činí jeho množství 3 000 - 6 000 kg N. Z tohoto celkového množství dusíku je 98 - 99 % obsaženo ve formě organické a zbytek 1 - 2 % ve formě minerální *(Richter a Hlušek, 2003).*

NEDOSTATEK DUSÍKU

Nedostatek dusíku se na révě projeví světle zelenožlutým zbarvením listových čepelí, červenavým zbarvením os letorostů, které zůstávají slabé a jejich vrcholky jsou vzpřímené. Též listové řapíky mají načervenalé zbarvení, listové čepele jsou malé stejně jako hrozny. Růst je pomalý, asimilace nízká, a proto je i cukernatost nízká. Jakost vína trpí nízkou extraktivností *(Baroň, 2010).*

NADBYTEK DUSÍKU

Nadbytek dusíku se naopak projeví hlavně zjemněním pletiv na celé rostlině. Proto se zvyšuje vnímavost k napadení houbovými chorobami a snižuje se odolnost proti suchu a mrazu. Vyzrálost dřeva se zhoršuje, zvyšuje se sprchavost a projevuje se vadnutí i hnití třapiny a bobulí *(Baroň, 2010).*

3.1.2. Evoluce dusíkatých látek v hroznech

Zásoby révy dusíkatými látkami obstarává jak floém (lýko), tak xylém (dřevo) rostliny. Transport dusíku v révě se odehrává ve formě amonných iontů nebo aminokyselin. Nitráty se vyskytují spíše zřídka z důvodu jejich rychlé redukce v kořenovém a listovém systému *(Baroň, 2010).*

Z pohledu dusíkatých látek existují dvě důležité syntézy v tvorbě hroznů. První v období tvorby bobulí a druhá v období zaměkání bobulí a konce zrání. Těsně před koncem zrání může koncentrace dusíku opět stoupnout. Při sběru je polovina dusíku obsažena v bobulích. Pokud jsou hrozny nezralé, reprezentuje více než polovinu dusíkatých látek amonný iont. Od zaměkání bobulí potom koncentrace amonných iontů klesá, přičemž roste koncentrace organických dusíkatých látek. Množství volných aminokyselin během zrání roste 2 až 5 násobně, dosahujících 2 - 8 $g.l^{-1}$ jako ekvivalentu leucinu. Ve zralém moštu reprezentují aminokyseliny 50 - 90% z celkového dusíku *(Baroň, 2010).*

Mošt ze zralých bobulí obsahuje sotva 20% celkového dusíku bobulí. Zbytek zůstává ve slupkách a semenech, ačkoli se ke konci zrání mění v rozpustnou formu dusíku (amonné ionty a aminokyseliny) *(Baroň, 2010).*

CELKOVÝ DUSÍK

Obsah celkového dusíku v hroznovém moštu slouží jako ukazatel zralosti v závislosti na ročníku. Může se rok od roku lišit i čtyřnásobně v závislosti na odrůdě révy, podnoži a oblasti pěstování *(Baroň, 2010).*

Dusíkaté látky, které nejsou spotřebovávány při fermentaci, zůstávají ve víně, kde jsou potom součástí bezcukerného extraktu. Obecně mají červená vína v průměru téměř dvojnásobné množství dusíku oproti bílým vínům. Je to způsobeno technikou zpracování zahrnující vyšší teplotu macerace, která evokuje snadné uvolňování dusíkatých látek ze semen a ze slupky *(Baroň, 2010).*

3.1.3. Formy dusíku

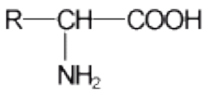
MINERÁLNÍ DUSÍK

Minerální dusík ve formě amonných solí je během růstové fáze nejběžnější formou dusíku v bobulích. Amoniakální dusík představuje 80% z celkového dusíku vznikajícího přeměnou dusíkatých látek asimilovaných kořeny rostlin. Má dominantní vliv na změnu barevnosti bobulí a jeho koncentrace začíná rapidně klesat s počátkem transaminačních reakcí (*Baroň, 2010).*

Jakmile jsou hrozny plně zralé, minerální dusík představuje méně než 10% celkového dusíku. Amonné ionty jsou nejsnadněji využitelným zdrojem kvasinek. Jejich koncentrace rapidně ovlivňuje dynamiku, se kterou mošt začíná fermentovat, stejně jako potenciál samotné fermentace. Tato forma dusíku ke konci alkoholové fermentace úplně vymizí *(Baroň, 2010).*

ORGANICKÝ DUSÍK

1. Aminokyseliny s obecným vzorcem:



Aminokyseliny jsou většinou bezbarvé, krystalické látky, dobře rozpustné ve vodě. Molekuly aminokyselin obsahující jednu kyselou karboxylovou skupinu -COOH a jednu bazickou skupinu -NH_2 se chovají jako amfotery *(Koutník, 1997).*

Aminokyseliny se v přírodě nacházejí volné nebo vázané. Například v kvasnicích α-alanin se nalézají jako volné, vázané jsou zejména jako základní stavební kameny peptidů nebo bílkovin. Aminokyseliny jsou běžnými součástmi živočišné tkáně a rostlinných pletiv *(Koutník, 1997).*

2. Oligopeptidy a peptidy

Vznikají spojením určitým počtem aminokyselin pomocí peptidické vazby. Oligopeptidy obsahují maximálně čtyři aminokyseliny. Polypeptidy mají vysokou molární hmotnost (pod 10 000 $g.mol^{-1}$) a mohou být separovány pouhou filtrací (ultrafiltrací, mikrofiltrací, nanofiltrací) a reprezentují majoritního dusíkatého zástupce ve víně *(Baroň, 2010).*

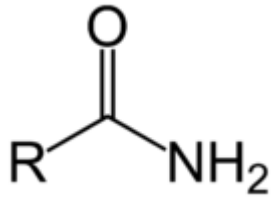
Některé malé peptidy mají také zajímavé sladké nebo hořké příchuti, které jsou užitečné při vinifikaci *(Ribéreau-Gayon, Dubourdieu, Donéche, 2006).*

3. Proteiny

Jsou makromolekuly vzniklé spojením velkým množstvím aminokyselin. Jejich molární hmotnost je nad 10 000 $g.mol^{-1}$ a jejich struktura obsahuje krom peptidické vazby i postranní vazby, které vytváří třírozměrné struktury: sférickou, helix apod. *(Baroň, 2010).*

Hrozny a následně víno obsahují mnoho proteinů s širokým rozsahem molární hmotnosti (30 000 - 50 000 $g.mol^{-1}$). Některé nestabilní proteiny jsou zodpovědné za zákaly v bílých vínech. Jiné proteiny se spojují s frakcemi sacharidů, např. manoproteiny či isolektiny, identifikovány v moštu odrůdy „Chardonnay“ *(Berthier et al., 1999).*

4. Amidy s obecným vzorcem:



5. Nukleový kyslík je přítomný v purinových a pyrimidinových bázích, nukleosidech a nukleotidech a nukleových kyselinách *(Baroň, 2010).*

6. V hexozách byl nalezen dusík ve formě aminoskupin vzniklých v cukrech záměnnou – OH skupiny za – NH_2 – glukosamin a galaktosamin *(Baroň, 2010).*

7. Pyraziny jsou šestičlenné heterocykly obsahující dva dusíky a čtyři uhlíky *(Baroň, 2010).*

3.2. Asimilovatelný dusík

Dusík je jeden z nejdůležitějších prvků v enologii, hraje nepostradatelnou úlohu v průběhu alkoholového kvašení. Je nezbytný pro rozmnožování a samotnou činnost kvasinek. *Bezenger a Navarra (1987)* uvádí, že úroveň asimilovatelného dusíku má největší vliv na výsledek fermentace. Asimilovatelný dusík se dělí na amonné ionty a volné aminokyseliny. V průběhu fermentace kvasinky transportují amonium a aminokyseliny z okolního prostředí do buňky, kde ho ve vakuolách uskladňují pro pozdější použití. Nejvíc látek obsahujících dusík je do buňky přeneseno přes aktivní transport. Tyto zdroje dusíku se používají při syntéze v membráně v průběhu rozmnožování kvasinek a pro produkci enzymů, které jsou nevyhnutelné pro glykolýzu, to je přeměnu fruktózy a glukózy na etanol *(Bely, 1990).*

V průběhu kvašení se spotřebovávají cukry ve stacionární fázi, když se dusík stává stále méně přístupným. Je to způsobeno jeho nedostatkem a nárůstem etanolu v médiu. Asimilovatelný dusík je nevyhnutelnou součástí výživy a zapojuje se v buňce prostřednictvím syntézy bílkovin, což částečně vysvětluje, proč se metabolismus kvasinek a samotná fermentace zpomalí. Z toho vyplývá, že čím nižší je koncentrace asimilovatelného dusíku v moštu, tím vyšší je riziko zastavení fermentace *(Dharmadhakari, 2001).*

Obsah asimilovatelného dusíku v moštech se pohybuje kolem desítek až stovek mg $N.l^{-1}$. Optimální obsah, který většinou postačuje k úplné fermentaci, je kolem 200 $mg.l^{-1}$ *(Baroň, 2011)*. Čím vyšší je požadovaný výsledný alkohol ve víně, tím vyšší je potřebný obsah asimilovatelného dusíku v hroznech. Největší obsah je ve slupkách a semenech, menší je v dužnině hroznů *(Farkaš 1980).*

Obsah asimilovatelného dusíku v hroznech závisí na hnojení, ročníku, půdě, ozelenění, podnoži a odrůdě *(Baroň, 2010).* A závisí i na stáří vinice a vyzrálosti hroznů *(Huang et al., 1991; Soufleros et al., 2003).* S nedostatkem se setkáváme u špatně vyzrálých hroznů, u hroznů napadených plísní, u hroznů pocházejících z vinic nedostatečně hnojených dusíkem a v případě, že rostlina trpí suchem, které je obecně prospěšnější spíše pro výrobu červených kvalitních vín.

Obsah dusíku v hroznech je velice variabilní i z hlediska hustoty a uspořádání výsadby. V přezrálých hroznech se může obsah dusíku zvýšit v důsledku snížení obsahu vody *(Baroň, 2011).*

Nedostatek dusíku v moštu je také zodpovědný za zastavení syntézy bílkovin v kvasinkách. V důsledku toho se snižuje transport cukrů, to znamená, že se rapidně zvyšuje možnost zastavení fermentace. Zásoby dusíku pochází z hroznů, anebo přidáním dusíkatých doplňků, které mohou mít vliv na růst kvasinek, celkový čas kvašení a senzorické vlastnosti vína. Podle zjištění z některých výzkumů měly odlišné kmeny kvasinek v podobných podmínkách odlišnou rychlost růstu, potřeby výživy a schopnost produkovat estery a produkci alkoholu. Kvasinkami asimilovatelný dusík v moštu se nachází v organické formě jako aminokyseliny a v anorganické formě v podobě amonných solí. Čím je nižší koncentrace YAN v moštu, tím je větší pravděpodobnost zpomalení až úplného zastavení fermentace *(Kunkee, 1991).*

Vína s vyšším množstvím zbytkového dusíku mají vyšší riziko mikrobiologické nestability s možnou tvorbou biogenních aminů a ethylkarbamátu, které jsou negativní sloučeniny pro kvalitu vína *(Morreno - Arribas et al., 2009).*

Složení dusíkatých látek v moštu může velmi výrazně ovlivnit také senzorické vlastnosti vína. Především aminokyseliny jsou velmi významnými prekurzory „aromatických esterů“ a dokážou velmi výrazně ovlivnit květinové ovocné tóny ve vínech. Významně se proto podílí na výrazném aromatickém charakteru bílých a růžových vín *(Pavloušek 2013).*

Nízký nebo naopak vysoký obsah asimilovatelného dusíku díky přidané výživě pro kvasinky dokáže ovlivnit senzorický charakter vína negativně. Důsledkem je potom zvýšená tvorba vyšších alkoholů, které se dále nepřeměňují na příjemnější estery, zvýšená tvorba sirných sloučenin s typickými „sirkovými tóny“ a vyšší tvorba těkavých kyselin. Důsledkem je také syndrom UTA, známý z německého vinařství 90. let 20. století, který rovněž velmi negativně ovlivňoval kvalitu bílých vín. Mladá vína se senzoricky chovala jako výrazně starší *(Pavloušek 2013).*

Spotřeba dusíkatých sloučenin během kvašení závisí především na základě fyzikálně - chemických vlastností (pH, kyselin a cukrů), odrůdě, obsahu dusíku v moštu,

kvasinkách, teplotě kvašení atd. *(Barbosa et al., 2009; Bell et al., 2005; Bouloumpasi et al., (2002); Henschke et al., 1993; Héberger et al., 2003; Valero et al., 2003).*

Za hlavní zdroj dusíkaté výživy kvasinek jsou považovány aminokyseliny glutamin a serin. Jsou charakterizovány rychlou spotřebou. Naopak hydroxyprolin, glycin a lysin nebyly využity kvasinkami, protože nepředstavují dobrý zdroj dusíkaté výživy *(Castor, 1952).*

3.2.1. Amonné ionty v hroznech a v moštu

Představují asi 80% z celkového dusíku přijímaného kořeny. Jejich obsah v různých ročnících značně variuje. Jejich koncentrace začíná nabírat na významu především v teplých oblastech v případě přezrálého materiálu, protože jejich obsah ve fázi dozrávání rapidně klesá *(Baroň, 2010).*

Běžné hodnoty amonia se pohybují v rozmezí desítek až stovek $mg.l^{-1}$. V případě, že koncentrace amonných iontů v moštu je nižší než 50 $mg.l^{-1}$, se pro zajištění hladkého průběhu rozkvasu doporučuje přidat fosfát či sulfát diamonný v množství 10 $g.hl^{-1}$. Množství amonných iontů může působit jako indikátor rychlosti fermentace, jelikož slouží výhradně ke stavbě buněčných stěn kvasinek a tvorbě proteinů *(Steidl, 2002).* Jejich obsah by neměl významně převyšovat množství potřebné k těmto procesům, a to zejména ze zdravotních důvodů. Při jejich přebytku dochází ke zvýšené tvorbě řady nežádoucích produktů, jako jsou těkavé kyseliny, močovina apod. *(Bely et al., 2003; Coulon et al., 2006).* Systematické přidávání amonných solí bez analýz o nutnosti přídavku se silně nedoporučuje. Může totiž snadno dojít k tvorbě vína s nízkou koncentrací vonných látek, především vyšších alkoholů, jejich esterů a etylacetátu mastných kyselin *(Baroň, 2010).* Vyplývá tedy, že sumplementace každého moštu bez znalosti obsahu asimilovatelného dusíku je nejenom ekonomicky nevýhodné, ale může zhoršit i kvalitu konečného produktu, tj. vína.

3.2.2. Aminokyseliny v hroznech a v moštu

Tvoří hmotnostně největší část celkového dusíku v moštu a ve víně. Volné aminokyseliny se pohybují v koncentraci 1 - 4 $g.l^{-1}$ v závislosti na ročníku. Ve zralých hroznech obvykle aminokyseliny reprezentují 30 - 40% celkového dusíku *(Baroň, 2010).*

Aminokyseliny mají molekulární hmotnost pod 200 $g.mol^{-1}$ a v moštu a ve víně jich bylo identifikováno 32. Aminokyseliny zaručují v moštu a ve víně pufrovou kapacitu. Tyto sloučeniny jsou velice důležité kvůli svým antioxidačním, antimikrobiálním, emulgujícím a povrchově aktivním vlastnostem *(Baroň, 2010).*

Jsou to hlavně arginin, α – alanin, serin, kyselina glutamová a její amidové formy glutamínu a prolinu. Arginin a prolin jsou charakteristické pro některé odrůdy. Aminokyselina prolin představuje pro kvasinky těžko využitelný zdroj. Spotřebují ho buď jen částečně, anebo ho neasimilují vůbec na rozdíl od argininu, který kvasinky asimilují bez problému *(Baroň, 2010).* Nejvíce spotřebované aminokyseliny v první polovině fermentace jsou: arginin, alenin, serin a threonin. Tyto aminokyseliny, zvláště arginin, jsou považovány za dobré zdroje dusíku pro *Saccharomyces cerevisiae* (*Bell et al., 2005; Henschke et al., 1993*).

Jsou prekurzory aromatických látek. Tvoří bezcukerný extrakt vína *(Baroň, 2010).*

3.3. Biochemie zrání hroznů

3.3.1. Morfologická stavba hroznu a bobule

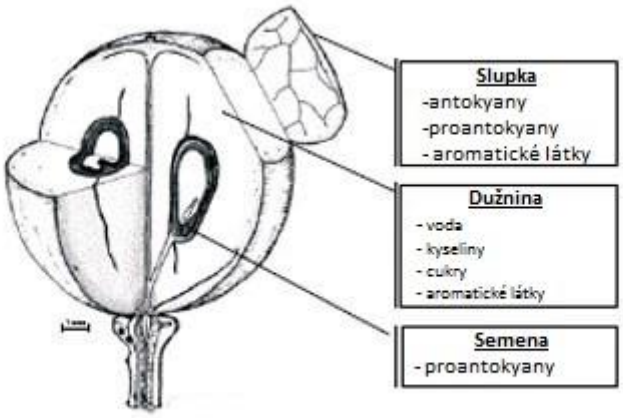
Plodem révy vinné je bobule – dužnatý plod, který se po úspěšném opylení a oplození vyvíjí z pletiv vajíčka. Květenství se přeměňuje na souplodí – hrozen složený z bobulí. Hrozen si zachovává základní morfologické znaky květenství, skládá se ze stopky, třapiny a bobulí. Bobule se skládá ze slupky, dužniny a semen (*Pavloušek, 2011).*

Slupku bobule tvoří kutikula, epidermis a hypodermis. Kutikula je vrstva na povrchu bobule a v závislosti na odrůdě může být různě silná. Na povrchu kutikuly se může vyskytovat voskový povlak. Koncentrace cukru v buňkách slupky je velmi nízká, obsah kyselin vyšší. Slupku charakterizuje zejména obsah sekundárních metabolitů, předně fenolické látky – antokyanová barviva, taniny a také aromatické látky *(Pavloušek, 2011).*

Dužnina tvoří 75 - 85% z celkové hmotnosti bobule. Obsahuje cukry, zvláště glukózu a fruktózu. Z organických kyselin mají největší zastoupení kyseliny vinná a jablečná. Dužnina je rovněž bohatá na kationty, z nichž nejvýznamnější je draslík. V dužnině se nachází pouze 20 - 25% z celkového obsahu dusíku v bobulích. Hlavními dusíkatými složkami jsou přitom

amonné ionty, aminokyseliny a bílkoviny. Sekundární metabolity v dužnině zastupují aromatické látky *(Pavloušek, 2011).*

Semena náleží k typu anatropních semen. Představují významný zdroj fenolických látek, díky čemuž mají význam pro kvalitu modrých hroznů a červených vín. Počet semen v bobuli a hmotnost semen mohou být různé v závislosti na stanovišti, ročníku a ošetřování vinice *(Hardie a Aggenbach, 1996).*



Obrázek 1 Stavba a složení bobule (Kennedy 2008).

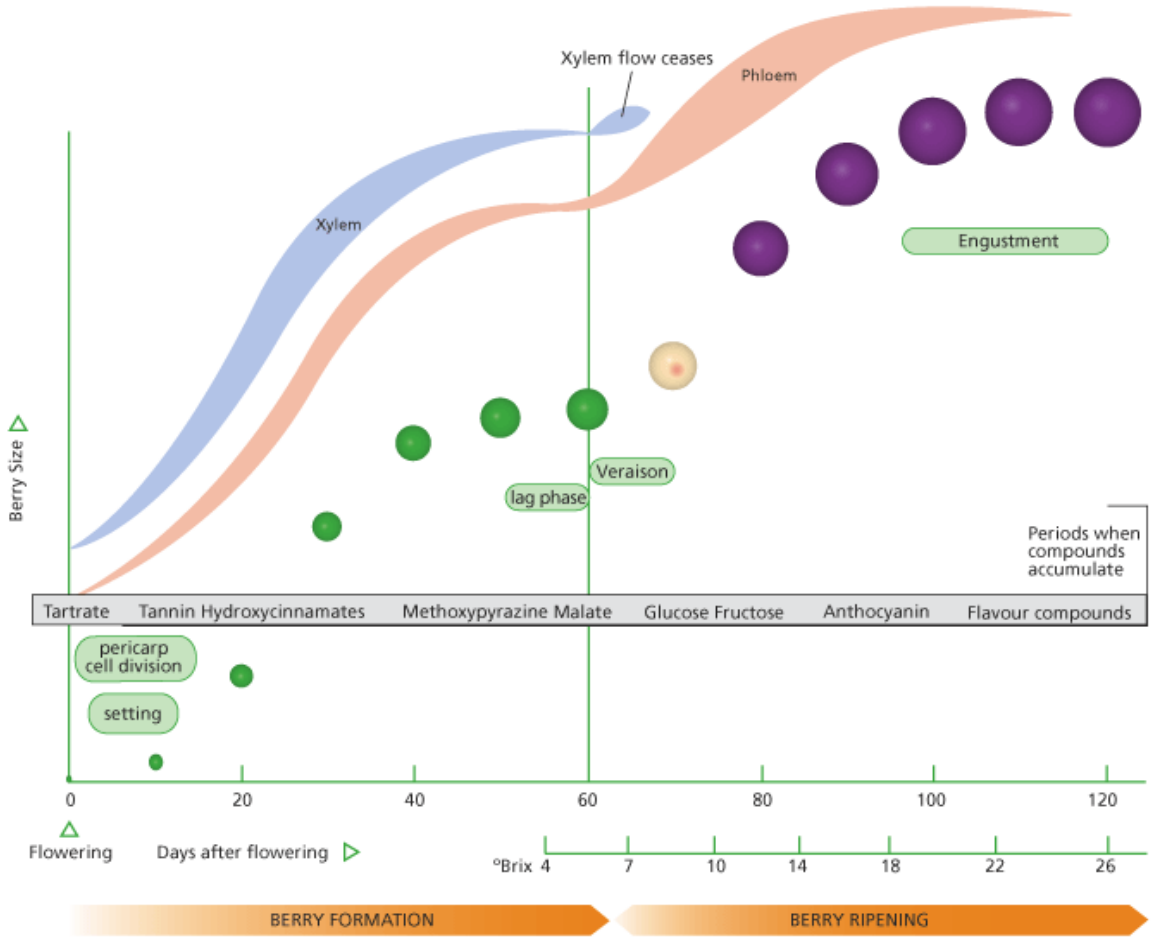
3.3.2. Vývojové změny bobulí

Coombe (1992) rozdělil vývoj bobule od oplození po zralost do tří hlavních fází a určil její křivku růstu. Při vývoji bobule dochází ke změnám ve velikosti, složení, barvě, textuře, aromatických a chuťových vlastnostech a citlivosti na houbové choroby a škůdce.

První růstová fáze začíná po odkvětu a trvá přibližně 45 - 65 dnů. V průběhu této fáze je chlorofyl dominantní ve všech částech bobulí. Odehrává se zde intenzivní metabolická aktivita charakterizována zvýšenou respirací a rychlou akumulací kyselin. Na počátku této fáze se vytvářejí také hydroxyskořicové kyseliny. Dochází zde rovněž k akumulaci minerálních látek, aminokyselin a některých skupin aromatických látek (*Pavloušek 2011).*

Druhá vývojová fáze bývá označována za fázi pomalého růstu a trvá přibližně 8-15 dnů. Je spojena pouze s malými změnami na velikosti a hmotnosti bobule. Začíná se však výrazněji měnit její chemické složení *(Pavloušek, 2011).*

Začátek třetí vývojové fáze charakterizuje hromadné zaměkání a vybarvování bobulí. Respirační intenzita bobulí se snižuje, zatímco určité enzymatické děje se prudce zvyšují. Dochází k akumulaci cukrů, minerálních látek, aminokyselin a fenolů, naopak koncentrace kyseliny jablečné se snižuje. V době zaměkání začínají do bobulí proudit cukry. Sacharóza, transportní cukr, je v bobulích hydrolyzována na glukózu a fruktózu *(Robinson, Davies, 2000).* V této fázi bývá také dosaženo nejvyššího obsahu asimilovatelného dusíku, jeho obsah však může do sklizně ještě klesnout.



Obrázek 2 Tvorba bobule a změny obsahových látek podle Coomba (2001)

3.4. Předfermentační macerace rmutu

Všechny operace s hrozny nebo se rmutem před lisováním mají jednak urychlit a zlepšit vylisování, jednak zlepšit chuťové a barevné složky v budoucím víně a taky zlepšit kvalitativní znaky moštu, například obsah asimilovatelného dusíku. Jednou z těchto operací je předfermentační macerace. Ta je důležitá při výrobě růžových vín, ale nezbytná je i pro výrobu mohutných a tělnatých bílých vín. Macerace obecně představuje máčení pevných částí rmutu v moštu za účelem uvolnění látek ze slupek, dužniny a semen do moštu. Macerací u bílých odrůd můžeme posílit odrůdové aroma, zlepšit strukturu a posílit tělo vína.

Je však nutné maceraci vždy zvážit a neaplikovat ji univerzálně při výrobě všech vín. Jsou případy, kdy macerace může ovlivnit kvalitu budoucího vína i negativně. Určitě by se neměla provádět v případě nezdravých hroznů napadených hnilobou nebo u špatně vyzrálých hroznů. Macerace není taky úplně vhodná u všech odrůd a na mysli musíme mít i další směřování vína, tzn. zvolenou technologii. Macerací se také do rmutu dostávají polyfenoly ze semen a případně třapin, které mohou extrahovat nežádoucí hořké či svíravé látky a projev vína je pak bylinný a trpký *(Peinado, 2004)*. Macerací se za pomocí enzymů také rozkládají lipidy z membránových frakcí na šestiuhlíkaté nasycené a nenasycené alkoholy. Ve víně se projevují jako zelené vegetální tóny (*Baroň, 2013).* Některé výsledky studií uvádí, že v macerovaných vínech se silněji projevují bylinné tóny *(Watson et al., 1994).*

Fenolické látky jsou v bílých vínech zastoupeny zejména hydroxyskořicovými kyselinami, které hrají rozhodující antioxidační roli před fermentací, kdy reagují s polyfenol oxidázou a zpomalují hnědnutí moštu *(Hernanz, 2007).* Fenolické látky jsou z větší části obsaženy ve slupkách, a to bylo důvodem vzniku různých způsobů zpracování hroznů s cílem narušení buněčných stěn slupky za účelem uvolnění fenolických látek *(Dicey, 1996; Sacchi et al., 2005).* Dosud většina provedených pokusů na mnoha odrůdách shodně prokazuje vliv studené macerace na zvýšení polyfenolických látek, zvýšení pH a snížení kyselin ve výsledném víně, zejména kyseliny vinné *(Heredia et al., 2010).* Macerace bílých odrůd se zdá být vhodná pro hrozny s vyšším obsahem kyselin, kdy macerace příznivě působí na extrakci minerálních látek na úkor kyselin *(Ribéreau, 2006).* Snížení kyselin a zvýšení pH je pravděpodobně způsobeno uvolněním draselných iontů ze slupek *(Durbourdieou et al., 1986).*

Macerací rmutu se z hroznů extrahují barviva i aromatické látky, které jsou ve slupce hroznů, těsně pod jejím povrchem. Proto je potřeba bobule před macerací mechanicky rozrušit. Tím se extrakce zintenzivní. Kromě mechanického rozrušení buněk hraje velkou roli teplota

a čas. Vyšší teplota obecně vede k rychlejšímu uvolnění látek do moštu, ale s rostoucí teplotou unikají také volatilní látky, které z moštu mizí nenávratně. Snahou vinaře je nalezení rovnováhy mezi časem a teplotou macerace s přihlédnutím k vyzrálosti hroznů *(Baroň, 2013)*. Teplota má také vliv na aktivitu enzymů. Enzymy nacházející se v hroznech mohou ovlivňovat aroma vlivem oxidace a ovlivňují rozkládání rmutu během macerace. Čím vyšší teplota, tím jsou enzymy aktivnější (v rozmezí 10°C až 30°C) a tím více žádoucích i nežádoucích látek se do moštu uvolní. Zajímavým fenoménem je taky přídavek pektolytických enzymů, kterými lze urychlit uvolňování barviva z buněk.

Doba macerace závisí na cíli, kterého chceme dosáhnout, na odrůdě, zdravotním stavu hroznů a na technické vybavenosti provozu. Obecně bychom mohli říct, že kratší macerační doba při nízké teplotě vede ke svěžejšímu a ovocnějšímu vínu, zatímco s rostoucí teplotou i macerační dobou vznikají vína s vyšší barvou, méně ovocitým charakterem a delším potenciálem zrání *(Bakker at Clarke, 2012)*. Krátká studená macerace minimalizuje extrakci flavonoidů a tím i možnou trpkost a hořkost (*Jackson, 2008)*. I když je studená macerace často kritizována v přesvědčení, že má za následek nižší potenciál zrání, některé výzkumy dokázaly, že po 2 letech není významný rozdíl mezi macerovaným a kontrolním vínem *(Heatherbell, 1994)*. Některé studie zjistily, že rozdíly v barvě a obsahu fenolů, které se projevují v moštu, nejsou zachovány ve víně *(Durbourdieou et al., 1986)*. Naopak *Salinas (2005)* zjistil, že rozdíly jsou ve víně patrné i 6 měsíců po nalahvování.

Vína vyrobená pomocí předfermentační macerace jsou obecně považována za aromatičtější. Aromatické látky, jejichž obsah můžeme ovlivnit macerací, vytvářejí buket vína. V bílých vínech bylo dosud identifikováno více než 680 takových látek *(Maarse & Visscher, 1994)*. Tyto látky se ale na výsledném buketu vína nepodílí stejnou měrou. Velmi záleží na takzvaném prahovém množství daném pro jednotlivé látky, které určuje, od jakého množství je chopen zdravý člověk danou látku vnímat. Práh vnímání je u jednotlivých látek různý.

Macerace rmutu pro výrobu bílých a růžových vín často probíhá v uzavřených pneumatických lisech, které mohou mít zabudováno i chlazení. V poslední době je ale hodně vinařských provozů vybaveno moderními kryotanky, které dovolují lepší regulaci teploty a delší maceraci.

3.4.1. Přidání oxidu siřičitého

Oxid siřičitý se někdy přidává do rmutu před, nebo v průběhu macerace. Dávka se většinou určuje podle zdravotního stavu hroznů a pohybuje se od 30 – 150 mg/l. Oxid siřičitý působí hlavně jako mikrobiální inhibitor, zabraňuje oxidaci, ale dodatečně působí jako rozpouštědlo fenolů tím, jak se váže s fenoly uvolněnými z narušených buněčných stěn *(Heatherbell et al., 1994; Parley, 1997).* Neboť přítomnost SO_2 významně přispívá k extrakci fenolů, někdy se do bílých rmutů určených k studené maceraci nepřidává. Nízká teplota během studené macerace omezuje činnost oxidačních enzymů a umožňuje tak provedení macerace bez použití síření. Žádoucí je přítomnost oxidu siřičitého v hroznech aromatických odrůd pro svou schopnost chránit látky vytvářející odrůdový charakter. Rozhodnutí o použití SO_2 by mělo být založeno na zvážení biologické stability rmutu a také zlepšení extrakci fenolů vyvolané použitím SO_2. Příliš velké množství fenolických látek však vede k nežádoucímu hnědnutí kvůli své oxidaci na quinony *(Dicey, 1996).*

3.4.2. Studená macerace

Studená macerace, někdy zvaná kryomacerace, se typicky provádí v rozsahu teplot 4 - 15°C po dobu hodin u bílých vín a 2 – 7 dní u červených vín. Někteří vinaři prodlužují dobu macerace i na 10 – 14 dní. Studie naznačují, že maximální extrakce fenolů je možné dosáhnout již po 2 – 5 dnech studené macerace *(Canals at al., 2005).* Udržování nízké teploty především snižuje rizika představená nežádoucími mikroorganismy, jako například heterofermentativní mléčné bakterie, *Acetobacter*, *Brettanomyces* a případně *Kloeckera/Hanseniaspora (Kaspar 2013).* Problémem může být špatná mísitelnost rmutu *(Steidl, 2010).*

Studenou maceraci je možné technologicky uskutečnit prostřednictvím:

- tepelného výměníku
- uložení v malých kontejnerech do chladicího boxu
- uložení v nerezovém tanku s dvojitým pláštěm
- CO_2 v pevném skupenství
- CO_2 stlačeného – míchání rmutu vstřikovací hlavicí s více tryskami
- CO_2 stlačeného – soustavy trysek na vibračním stole s dopravníkem
- N_2 v kapalném skupenství – nalévání *(Kaspar, 2014)*

CO_2 v pevném skupenství, neboli suchý led, představuje hojně využívanou variantu zejména u malovinařů. Po přidání k cílovému produktu přechází CO_2 z pevné formy přímo do plynné (sublimace), aniž by přecházel do kapalné fáze. Suchý led je nejčastěji dodáván v podobě pelet. Hlavní výhodou je rychlost zchlazení, možnost použití již při sběru ve vinici, ochrana před oxidací inhibicí enzymu polyfenol oxidázy, vytěsnění kyslíku svou sublimací v nádobě a nulové fixní náklady. Nevýhodou jsou velmi omezené možnosti skladování a vyšší cena *(Kaspar, 2013).*

Obrázek 3 Pelety suchého ledu a jeho sublimace (www.castellodiamorosa.com).

3.4.3. Shrnutí senzorického vlivu

Z dostupné literatury se dá usoudit, že předfermentační macerace má vliv na:

- zvýšení ovocitého charakteru chuti/aroma *(Álvarez et al., 2006; García-Romero et al., 1999; Parenti et al., 2004; Palomo et al., 2006)*, zejména zvýšení koncentrace terpenických látek v moštech bílých odrůd;
- zvýšení intenzity aroma a jeho komplexnosti *(Peinado et al., 2004)*;
- zvýšení plnosti vína – vlivem zvýšené koncentrace fenolů a polysacharidů *(Peinado et al., 2004);*
- zvýšení intenzity barvy nebo odstínu *(Parenti et al., 2004; Gomez-Plaza et al. 2000; Dicey, 1996);*
- obecně vede až k vínům s mírnou trpkostí a zvýšenou hořkostí *(Dicey, 1996; Jackson, 2008).*

4. Experimentální část

4.1. Materiál

4.1.1. Popis sledovaných odrůd

Pro realizaci experimentu jsem vybral 2 bílé moštové odrůdy, „Tramín“ a „Rulandské bílé“. Tyto odrůdy jsem vybral zejména proto, že jsou podle mého názoru pro předfermentační maceraci velmi vhodné, a výsledky práce tedy mohou být v budoucnu aplikovány v praxi. Taky jsem přesvědčen, že jsou pro náš region velmi vhodné. A v neposlední řadě jsou to moje oblíbené odrůdy, u kterých mě baví zkoušet různé způsoby zpracování a technologické novinky.

RULANDSKÉ BÍLÉ

Odrůda vznikla jako pupenová mutace „Rulandského šedého“ a pěstuje se v Alsasku již od 14. století. Celá skupina burgundských odrůd zřejmě pochází z Burgundska a je rozšířena po celé Evropě. Český název „Rulandské“ vychází z označení „Rulandského šedého“ v Německu, kde se o jeho rozšíření zasloužil Johann Seger Ruland ze Speyeru. Ale žádná souvislost neexistuje k označení dalších burgundských odrůd jménem tohoto obchodníka. Český název „Rulandské“ pro celou skupinu burgundských odrůd se tak stal světovou raritou. Na území České republiky zabírá necelých 5% vysazených vinic. Průměrné stáří vinic osázených „Rulandským bílým“ je 22 let.

Je to odrůda středního růstu, s hustěji olistěnými letorosty a tří - až pětilaločnými listy. Její hrozen je malý až střední, válcovitý, hustý. Bobule malé, kulaté, někdy poněkud oválné, s tenkou slupkou a řídkou dužninou. Dřevo letorostů vyzrává dobře a mrazuodolnost je dobrá. Odolnost proti houbovým chorobám je střední, ale proti plísni šedé nízká. Zrání hroznů je pozdní, a proto vyžaduje výborné polohy. Nejlepší kvality vín se dosahuje na vápenitých půdách. Sklizně jsou pravidelné a dobré. Poměrně často se docilují predikátní vína vyšších stupňů *(Kraus, 1999).*

Na půdním složení a vinařské oblasti závisí celkový projev vína. Na celém světě však patří vína odrůdy „Rulandské bílé“ mezi klasická bílá vína. K tomu, aby byly splněny předpoklady pro takové ocenění, nesmějí být výnosy příliš vysoké a vyzrálost hroznů alespoň kolem kvality pozdního sběru. Při nadměrném výnosu a nedozrálých hroznech jsou vína hrubá,

tvrdá, prázdná a žádným ležením se nezlepší. Při odpovídajících podmínkách jsou vína elegantní, harmonická, plná a bohatá extraktivními látkami. Přitom nikdy nepůsobí těžkopádně. Jejich kyselina je zralá, což zvyšuje přitažlivost, a při řízeném kvašení se v nich zachovají i jemné květinové vůně. Ležením se taková vína ještě více zaplňují a získávají na viskozitě, jejich barevné tóny se zvýrazní a původní svěží aroma se mění na vůni hrušek, červeného ovoce nebo i lískových oříšků. „Rulandské bílé“ je vhodné pro tvorbu výběrů a bobulových i botrytických výběrů. Ale je to současně výborná surovina pro šumivá vína *(Kraus 1999).*

TRAMÍN

Tramín stojí geneticky velmi blízko k volně rostoucí lesní révě, z níž mohl vzniknout nahodilým křížením s některou dávnou kulturní odrůdou pěstovanou Římany.

Odrůda je středního až bujného růstu, letorosty jsou hustě olistěné tmavě zelenými, okrouhlými a málo dělenými listy, které mají povrch silně krabatý. Hrozny jsou malé, krátce kónické, s malými, mírně oválnými bobulemi, které mají velmi tlustou slupku, v níž je uloženo mnoho kořenitých, aromatických látek. Barva slupky je červená až šedočervená. Dřevo vyzrává velmi dobře a mrazuodolnost je vysoká. Odolnost proti houbovým chorobám je dobrá. Odrůda je náročná na výborné polohy a vyžaduje hluboké, živné půdy. Při deštivém počasí v době kvetení snadno sprchává. Zrání hroznů je střední až pozdní a dosahuje se vysoká koncentrace cukru v bobulích, ale kyseliny mohou až příliš poklesnout. Proto se v některých oblastech přistupuje k dělené sklizni a část hroznů se sklidí v dřívějším termínu, aby se kyseliny zachovaly, a obě vína se pak skupážují.

Vína „Tramínu“ mají intenzivnější barvu než většina ostatních bílých vín – jsou zelenožlutá až zlatožlutá. Pro víno je příznačná bohatost omamující vůně a kořenitosti, které jsou u vyšších stupňů predikátních vín podbarveny sladce medovými tóny hrozinek *(Kraus, 1999).*

4.1.2. Popis stanoviště

Vinice, odkud pochází hrozny „Rulandského bílého“, se nachází v obci Hovorany ve Slovácké podoblasti, trať Staré hory. Jedná se o jižní svah, půda je sprašovitá. Stáří vinice je 17 let. Vedení je střední s jedním tažněm se zatížením 8 – 10 oček na keř. Šířka meziřadí činí 2,2 metry a vzdálenost keřů 1 metr. Meziřadí je ozeleněno, ale největší podíl mají ne příliš vhodné traviny čeledi lipnicovitých. Vinice je obhospodařovaná v režimu ekologického zemědělství.

Vinice, odkud pocházejí hrozny „Tramínu“, se nachází v Čejkovicích ve Velkopavlovické podoblasti, trať Niva hrbatá. Průměrná roční teplota v Čejkovicích je 9,2°C. Vinice je vysazena na jihozápadním svahu, půda je hlinitopísčitá. Stáří vinice je 11 let. Vedení je střední s jedním tažněm se zatížením 10 – 12 oček. Šířka mezižadí je 2,3 metru a vzdálenost keřů 1 metr. Mezižadí je ozeleněno. Kvůli erozi v nejprudší části svahu je ozeleňen i příkmenný pás. Vinice je obhospodařována v režimu ekologického zemědělství.

4.1.3. Meteorologické zhodnocení

Rok 2014 začal s vinařského pohledu dobře. Zima byla velice mírná. Jarní mrazy se Moravě taky vyhnuly. Jaro přišlo ve srovnání s jinými lety dříve a vegetace byla v první polovině roku asi v dvoutýdenním předstihu. Největší problém v první polovině roku znamenalo sucho. V měsíci červnu spadlo v Jihomoravském kraji pouze 29 mm srážek, což odpovídá 39 % dlouhodobého průměru. I když pro révu není sucho tak kritické jako pro ostatní plodiny, na sušších lokalitách už se daly pozorovat známky nedostatku vláhy. Průměrná teplota v Jihomoravském kraji byla 10,5°C, což je nadprůměrná hodnota.

Vše se změnilo v polovině srpna, kdy začaly intenzivní srážky. Ty ještě neznamenaly velký problém. Ale intenzivní srážky, které přišly v září, v době zaměkání a zrání hroznů, zapříčinily extrémní tlak plísně šedé. V září spadlo v Jihomoravském kraji 136 mm srážek, což odpovídá 330% dlouhodobého průměru. I ti nejzkušenější vinaři své vinice většinou nebyli schopni uchránit a některé odrůdy se proto musely sklízet ještě v době, kdy zralost nebyla optimální, aby se zabránilo úplnému zničení úrody. Napadení plísní šedou se vyskytovalo i na hroznech určených pro experiment a mohlo se projevit i na výsledcích. U „Tramínu“ bylo plísní šedou napadeno asi 20% hroznů. U „Rulandského bílého“ asi 30% hroznů.

4.1.4. Zpracování a odběr vzorků

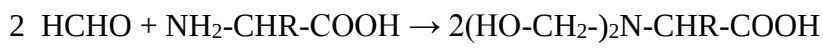
„Tramín“ byl sklizen 29. 9. 2014 při cukernatosti 22°NM. „Rulandské bílé“ bylo sklizeno 30. 9. 2014 při cukernatosti 21,5°NM. Sklizeň hroznů probíhala ručně do sklápěcích vozíků. Kvůli silnému napadení hroznů plísní šedou bylo nutné provádět už při sběru třídění, kdy nejvíce napadené hrozny a hrozny napadené bílou hnilobou byly ponechány ve vinici. Po sklizni byly hrozny ihned převezeny k dalšímu zpracování. Hrozny byly odzrněny a pomlety v nerezovém mlýnkoodzrňovači. Z celého objemu rmutu byly odebrány vzorky pro experiment do 30 litrových beden. Rmut bylo ošetřen disiřičitanem draselným. Od každé odrůdy byly

provedeny 2 varianty. První byla nechlazená, která měla podle aktuální okolní teploty kolem 15°C a druhá chlazená, u které byla pomocí suchého ledu udržována teplota 5°C. Rmut se maceroval po dobu 48 hodin, během kterých se průběžně odebíraly vzorky. Odebírání vzorků probíhalo po 0, 2, 4, 12, 24 a 48 hodinách. Před každým odběrem byl rmut řádně promíchán, aby odebraný vzorek byl co nejobjektivnější. Ihned po odebrání byly vzorky zmraženy a udržovány v mraze až do doby měření. Před samotným měřením byly vzorky ponechány 8 hodin při pokojové teplotě, aby se samovolně rozmrazily. Následně bylo provedeno měření.

4.1.5. Metody měření

Stanovení celkového asimilovatelného dusíku formaldehydovou titrací

Protože aminokyseliny mají amfoterní povahu, není možné použít k jejich stanovení běžné acidometrické nebo alkalimetrické titrace. Aminoskupina však lze zablokovat, například reakcí s formaldehydem:



$$2\ HCHO + NH_2\text{-}CHR\text{-}COOH \rightarrow 2(HO\text{-}CH_2\text{-})_2N\text{-}CHR\text{-}COOH$$

(dimethylolaminoskupina)

Pak se plnou měrou uplatní kyselý charakter karboxylové skupiny. Takto modifikované aminokyseliny můžeme titrovat hydroxidy podobně jako např. kyselinu octovou.

Roztoky a materiál:

0,1 M a 0,01 M vodný roztok hydroxidu sodného

Neutrální roztok formaldehydu: k 50 ml 40% formaldehydu přidáme 1 ml 0,5% alkalického roztoku fenolftaleinu. Následně přidáme 0,01 M NaOH až do slabě růžového zbarvení.

0,5 % alkoholický roztok fenolftaleinu.

Pracovní postup:

10 ml vzorku zneutralizujeme 0,1 M roztokem NaOH a přidáme 5 ml neutrálního roztoku formaldehydu. Následně směs titrujeme 0,01 M roztokem NaOH do růžového zbarvení (bod ekvivalence pH 8,8).

Vyhodnocení:

Pomocí spotřeby roztoku NaOH vypočítáme ekvivalentní množství aminodusíku.

1 ml NaOH odpovídá 0,14 mg N. Údaj v mg N byl přepočítán na objemovou jednotku původního vzorku:

$$\mathbf{X = a * 0,14 * 100 * f}$$

x – množství dusíku v mg $N.l^{-1}$

a – spotřeba roztoku NaOH v ml

f – faktor roztoku NaOH

Formaldehydová metoda současně detekuje část amonných iontů (80 - 120%), které reagují s formaldehydem za vzniku hexamethylentetraaminu a příslušného množství noniových iontů.

Stanovení analytických hodnot moštů pomocí spektrometru Alpha FT – IR

Spektrometr je druh vědeckého přístroje, který umožňuje zkoumat chemické složení látky či objektu na bázi měření odraženého světla, respektive odražené vlnové délky světla a jeho absorbci, nebo na základě měření vzniklého světla, přičemž ke vzniku dochází umělou excitací (plazma, jiskra, rtg).

Spektrometr Alpha je spolehlivý, přesný nástroj vhodný pro použití v praxi, ale i pro vědecko-výzkumné použití. Chytrý software provází jednotlivými kroky a má lehko vyměnitelné moduly pro analýzu různých vzorků (QuickSnap). Patentovaný inferometr má robustní konstrukci a zajišťuje kvalitní výsledky.

Při analýze vzorků moštů se musely odstranit mechanické nečistoty, to se provedlo odstředěním. Takto odstředěný mošt se dávkoval injekční stříkačkou do spektrometru. U každého vzorku se provedly tři měření, z nichž se udělal průměr.

Obrázek 4 Spektrometr Alpha FT - IR (www.biopro.cz)

4.2. Výsledky

Ke zpracování výsledků byly použity softwary:

- Microsoft Office Excel
- STATISTIKA cz

Před interpretací samotných výsledků je nezbytné zmínit, že ročník 2014, v němž probíhalo měření, byl velmi komplikovaný, co se týče silných srážek v době zrání hroznů a následného silného napadení hroznů plísní šedou. Při zpracování hroznů napadených plísní je nutné přizpůsobit technologii. Předfermentační macerace, která byla prováděna v rámci experimentu pro tuto práci, určitě nepatří mezi operace, které je vhodné provádět u hroznů napadených plísní, a výsledky jsou tedy pravděpodobně částečně zkreslené a ovlivněné zdravotním stavem hroznů.

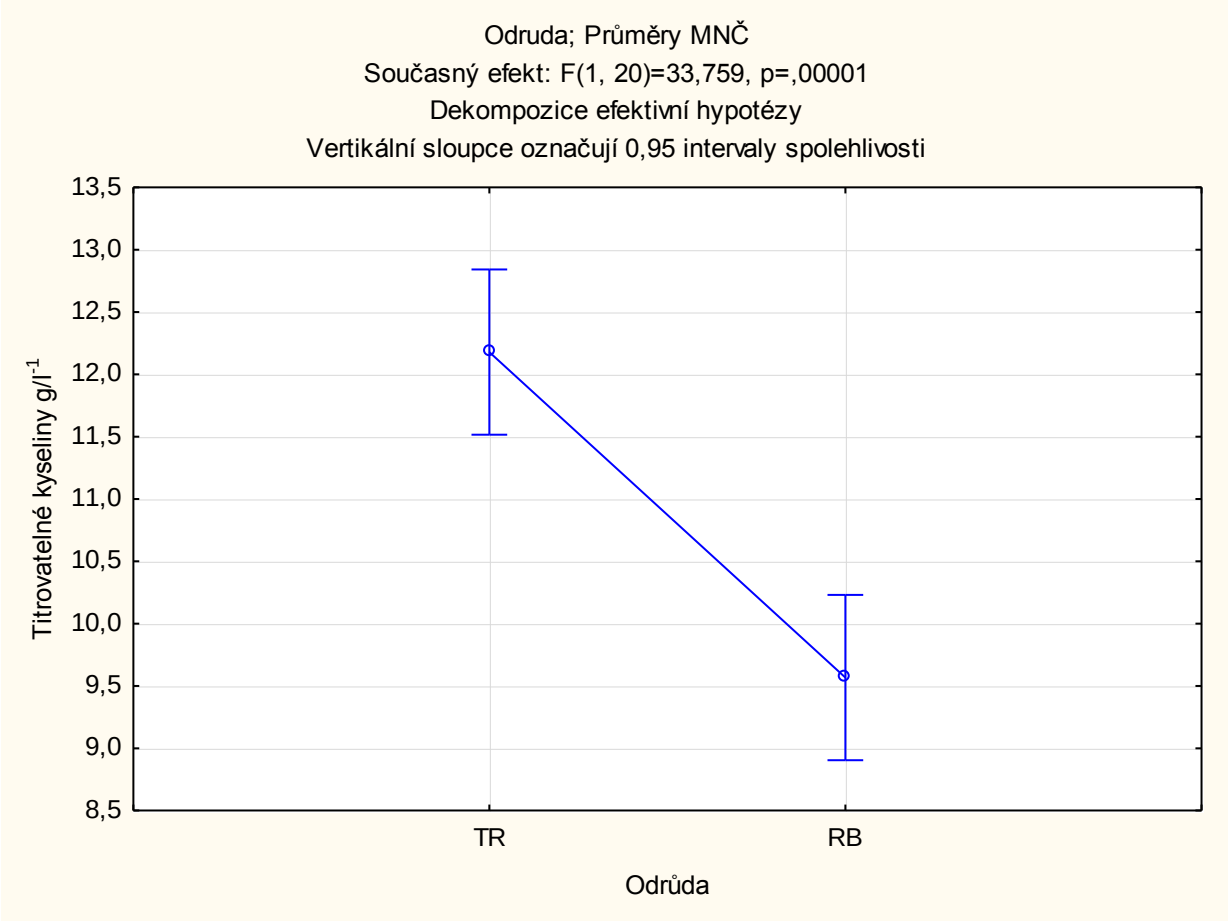
Tabulka 1: Analytické hodnoty moštu odrůdy „Tramín“. Varianta 1 je nechlazená, Varianta 2 je chlazená

Odrůda	Hodiny	°NM	Titrovatelné kyseliny g/l $^{-1}$	YAN mg/l $^{-1}$	pH	Zkvasitelné cukry g/l $^{-1}$	Kyselina vinná g/l $^{-1}$	Kyselina jablečná g/l^{-1}
TR 1	0	22,7	12,14	269,3	3,21	234,2	6,67	7,17
TR 1	2	23,1	12,81	288,0	3,31	235,4	7,68	7,39
TR 1	4	22,4	12,55	280,6	3,29	227,5	7,70	7,32
TR 1	12	21,7	11,53	291,3	3,17	217,9	5,48	7,29
TR 1	24	22,9	12,34	285,0	3,26	228,7	6,33	7,36
TR 1	48	21,1	11,28	288,3	3,24	205,3	4,92	6,84
TR 2	0	22,1	11,99	243,6	3,19	227,8	5,82	7,24
TR 2	2	21,2	11,91	263,3	3,32	216,4	6,76	6,76
TR 2	4	23,9	14,38	288,0	3,35	240,1	9,53	7,69
TR 2	12	22,9	13,39	266,0	3,23	230,9	7,83	7,50
TR 2	24	22,2	13,21	273,0	3,36	222,4	8,74	7,15

Tabulka 2: Analytické hodnoty moštu odrůdy „Rulandské bílé“. Varianta 1 je nechlazená. Varianta 2 je chlazená.

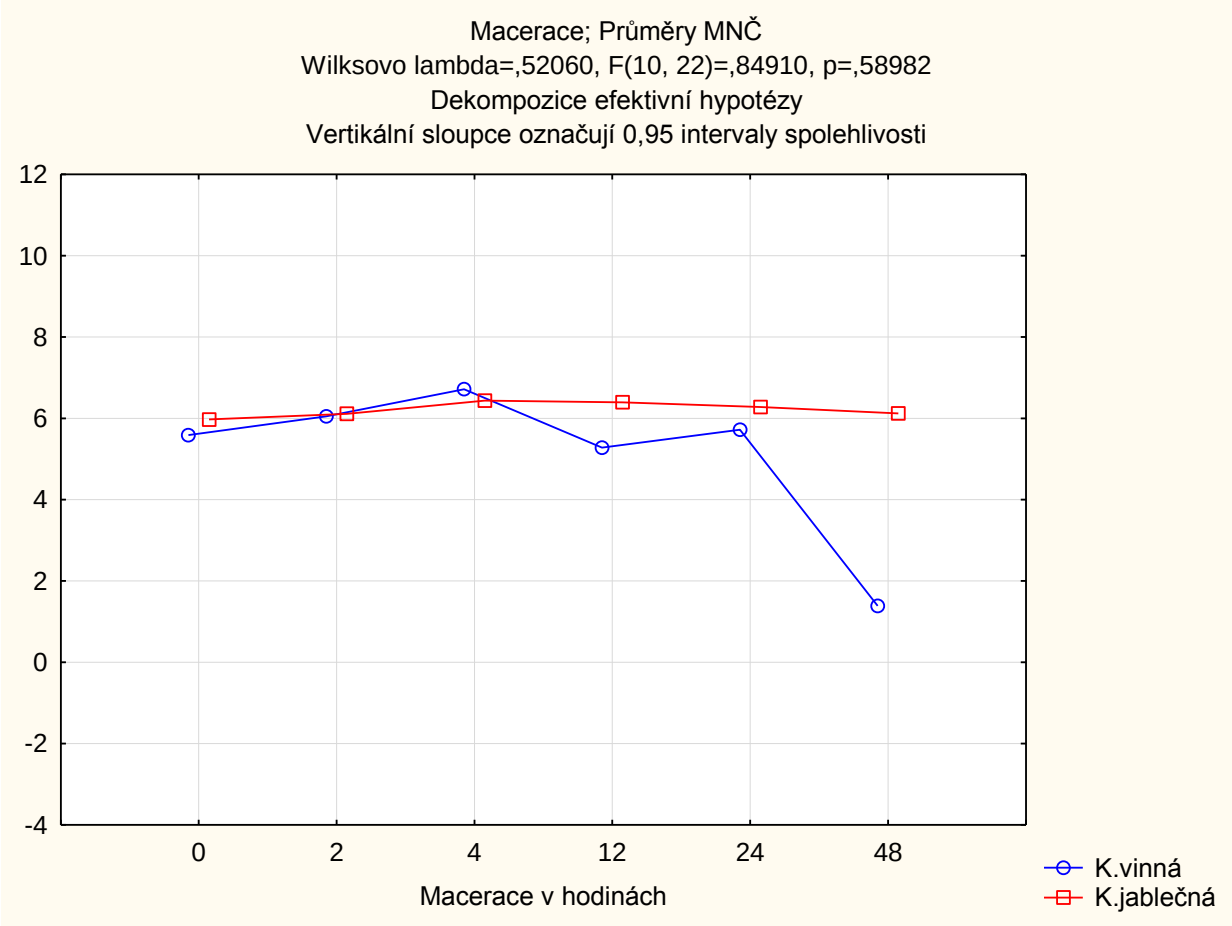
Odrůda	Hodiny	°NM	Titrovatelné kyseliny g/l $^{-1}$	YAN mg/l $^{-1}$	pH	Zkvasitelné cukry g/l $^{-1}$	Kyselina vinná g/l $^{-1}$	Kyselina jablečná g/l^{-1}
RB 1	0	20,4	8,98	129,0	3,07	213,0	5,17	4,50
RB 1	2	18,7	9,08	100,6	3,10	196,7	4,98	5,10
RB 1	4	20,2	9,92	103,0	3,13	211,5	5,44	5,53
RB 1	12	18,0	8,61	83,0	3,08	192,1	3,59	5,23
RB 1	24	18,6	9,03	97,6	3,16	193,7	4,38	5,16
RB 1	48	18,2	8,57	114,3	3,18	188,4	3,55	5,39
RB 2	0	20,5	9,69	79,6	3,04	216,3	4,70	4,98
RB 2	2	19,4	9,80	78,0	3,07	204,8	4,77	5,19
RB 2	4	19,2	9,65	52,6	3,11	204,0	4,18	5,20
RB 2	12	20,2	10,20		3,04	213,5	4,22	5,55
RB 2	24	18,9	10,32		3,05	201,8	3,43	5,44
RB 2	48	20,5	10,95		3,20	215,5	4,02	5,93

Hodnoty v tabulkách byly měřeny pomocí přístroje APLHA. Hodnoty obsahu asimilovatelného dusíku (YAN) měří tento přístroj pouze orientačně. Pro vyhodnocení pokusu byly tedy použity výsledky naměřené pomocí formaldehydové titrace.



Graf 1: Srovnání obsahu titrovatelných kyselin v moštech jednotlivých odrůd.

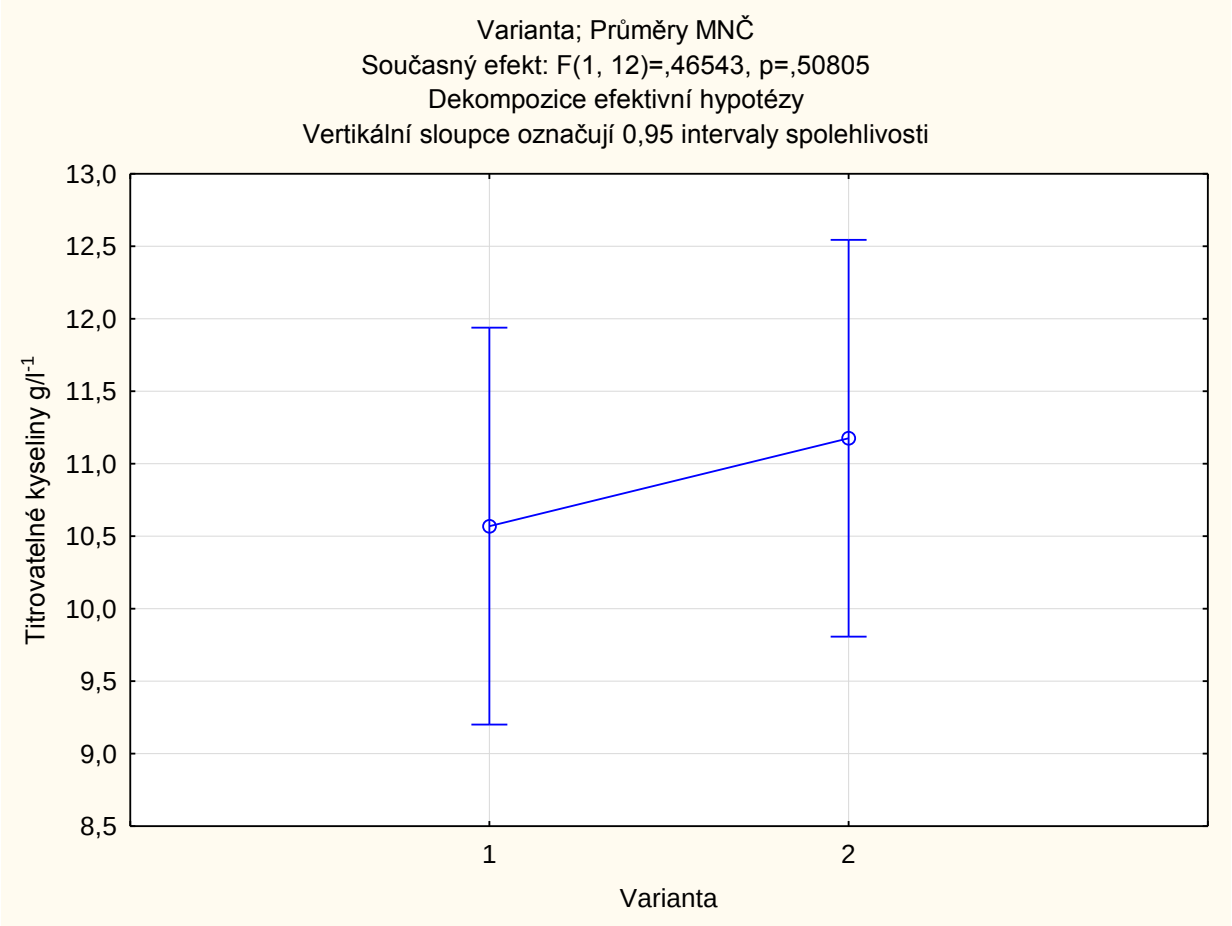
Je velmi zajímavé porovnat obsah titrovatelných kyselin v jednotlivých odrůdách. „Tramín“ je odrůda, která v běžných letech dosahuje velmi nízkých obsahových hodnot kyselin a často se kyseliny kvůli úpravě pH musejí do moštu přidávat. Měření z roku 2014 ale ukázalo, že mošt „Tramínu“ obsahoval kolem 12 g/l^{-1} titrovatelných kyselin, což je významně víc než u odrůdy „Rulandské bílé“. Tato skutečnost ukazuje zvláštnost ročníku 2014.



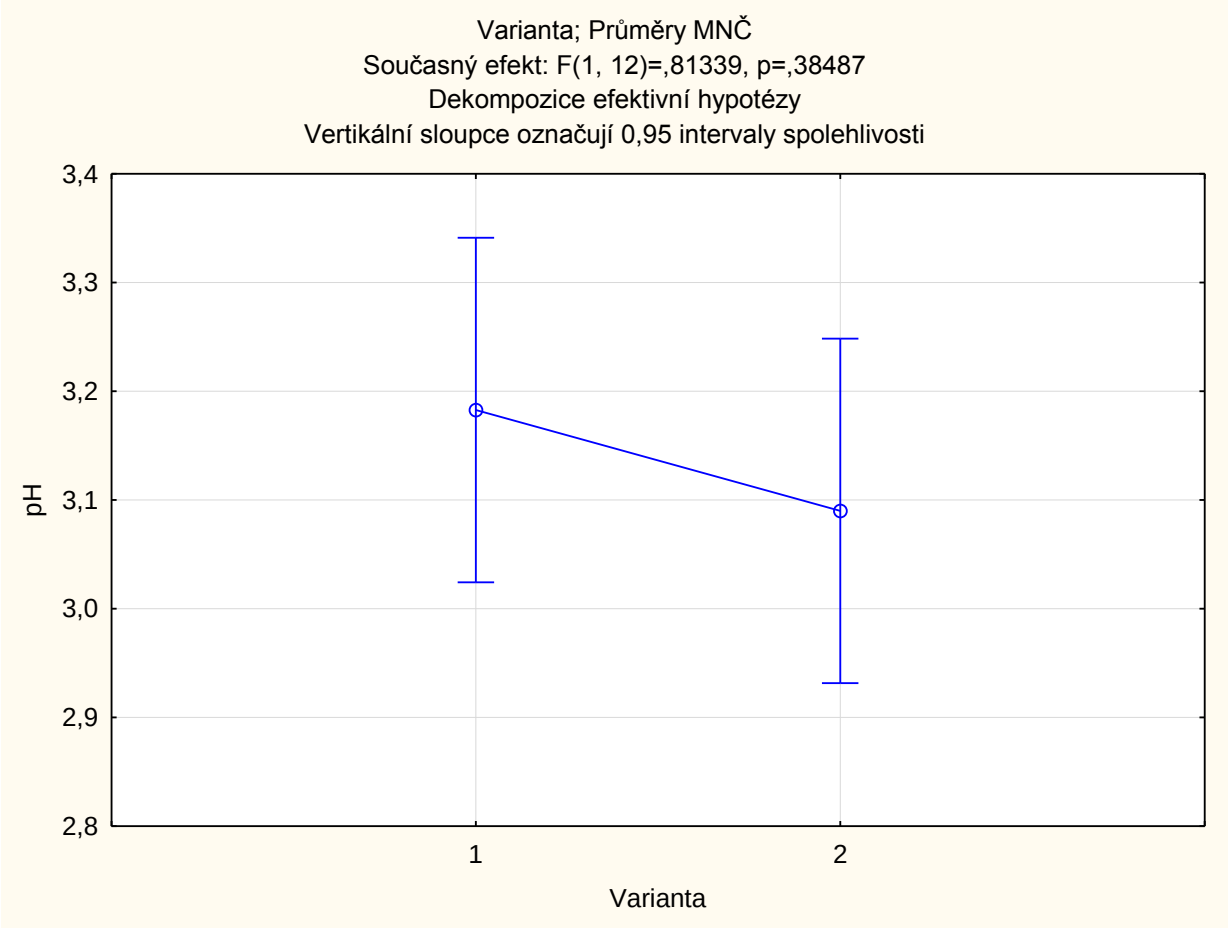
Graf 2: Vývoj kyseliny vinné a kyseliny jablečné v průběhu fermentace.

Zajímavé je také srovnání vývoje obsahu kyseliny vinné a jablečné v průběhu macerace. Kyselina jablečná je téměř konstantní během celé macerace. Oproti tomu obsah kyseliny vinné po čtyřech hodinách macerace začal klesat a do ukončení macerace klesl významně. Pokles kyseliny vinné během macerace zmiňuje více autorů a pravděpodobně je způsoben uvolněním draselných iontů ze slupek. Macerace je tedy vhodná pro hrozny s vyšším obsahem kyselin.

Následující 2 grafy znázorňují rozdíl v obsahu titrovatelných kyselin a pH u nechlazené a chlazené varianty. Chlazená varianta měla vyšší obsah kyselin a nižší pH. Z toho vyplývá, že ve vyzrálých ročnících, kdy je důležité kyseliny zachovat, je vhodnější studená macerace.

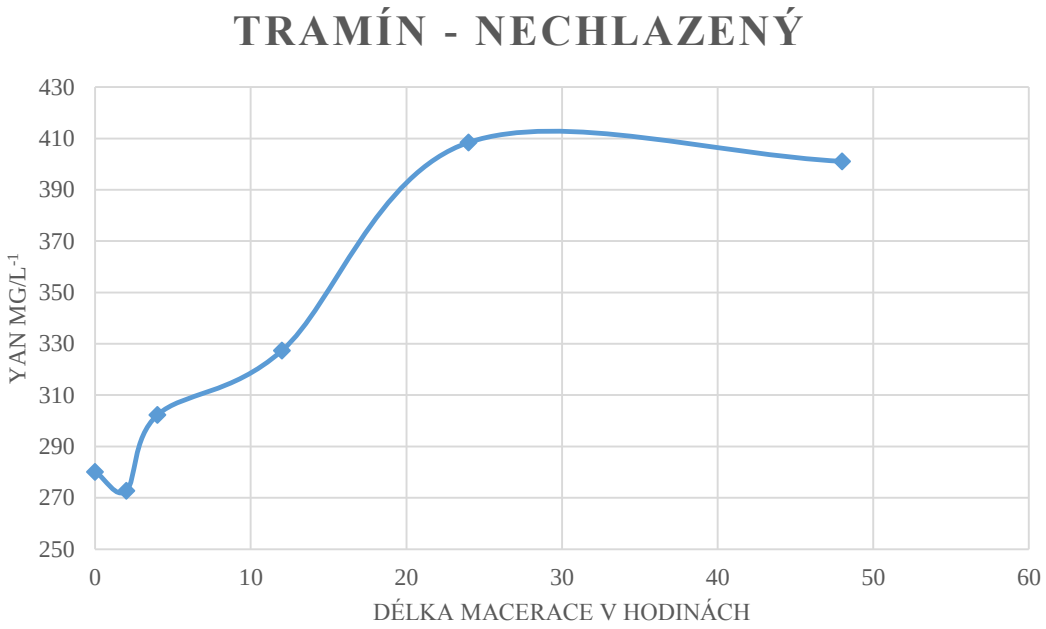


Graf 3: Obsah titrovatelných kyselin u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty.



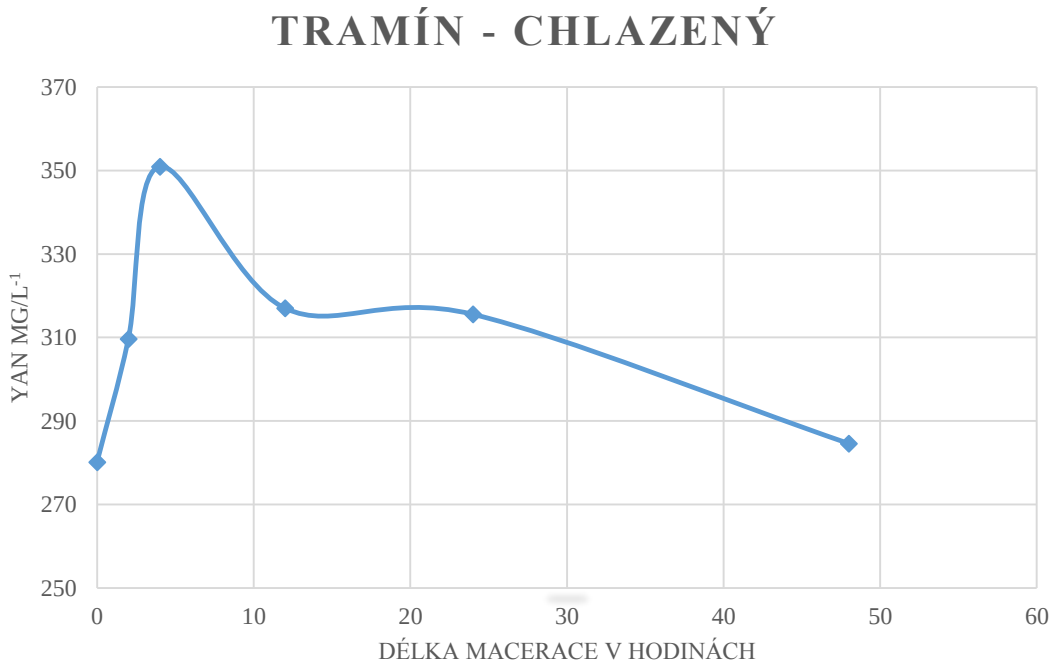
Graf 4: pH u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty.

Následující grafy zobrazují výsledky měření obsahu asimilovatelného dusíku, což byl hlavní experiment této práce. U každé odrůdy jsou vypracovány 2 grafy, z nichž první varianta byla nechlazená a druhá byla chlazená na 5°C.



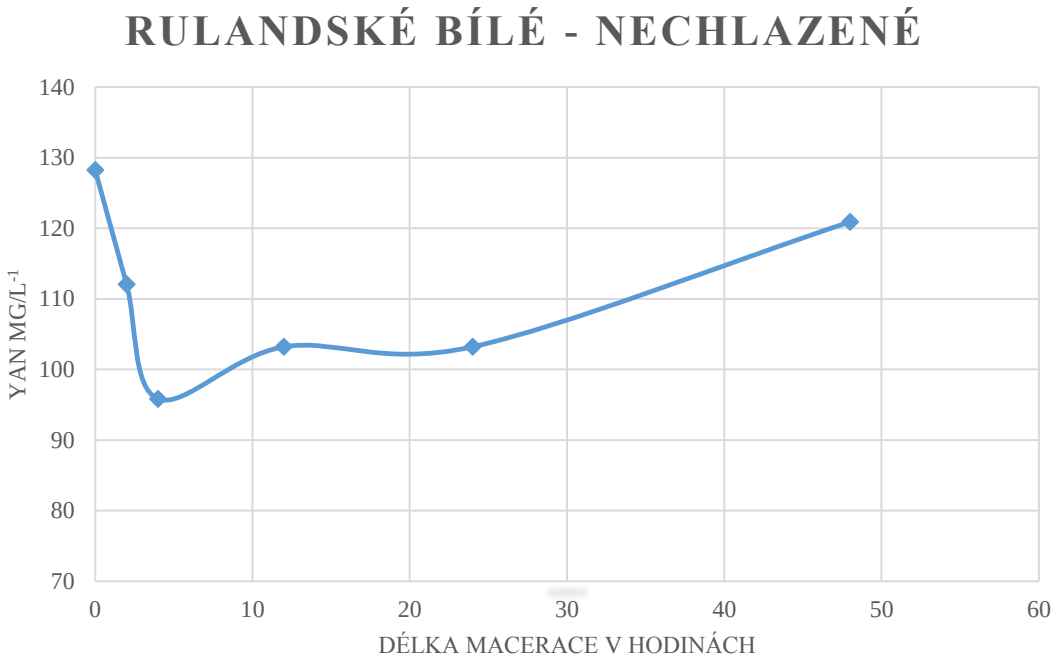
Graf 5: Vývoj obsahu YAN u nechlazené varianty odrůdy „Tramín“.

Vývoj obsahu asimilovatelného dusíku, který proběhl u této varianty, jsem předpokládal a očekával jsem ho v různých obměnách u všech variant. Moje předpoklady však nebyly správné a potvrdily se pouze u této varianty. Přisuzuji tuto skutečnost hlavně ročníku a celkovému zdravotnímu stavu hroznů. Podle tohoto grafu můžeme říct, že hodnota asimilovatelného dusíku byla dostatečná už před macerací a dosahovala hodnoty 280 mg/l^{-1}. Během macerace se obsah zvedl až na 410 mg/l^{-1}, což je obsah velmi vysoký a pro správnou fermentaci bohatě dostačující. Obsah asimilovatelného dusíku se zvedal prvních 24 hodin macerace a dále už se nezvyšoval. Když tedy bereme v úvahu pouze obsah asimilovatelného dusíku, nemá další macerace význam.

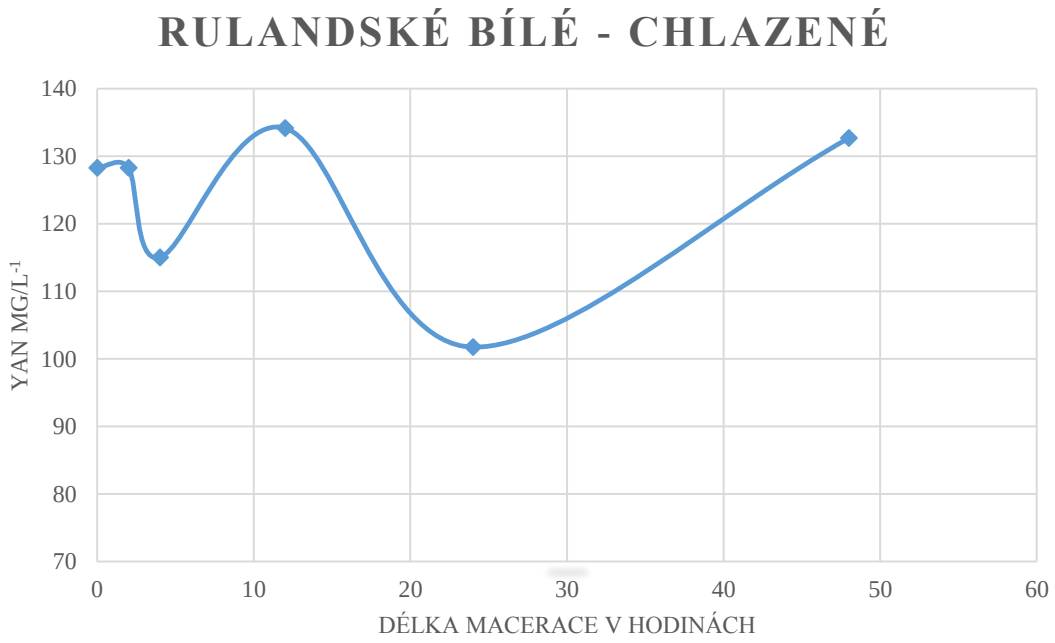


Graf 6: Vývoj obsahu YAN u chlazené varianty odrůdy „Tramín“.

U chlazené varianty jsem očekával pomalejší, ale konstantní nárůst obsahu asimilovatelného dusíku. Na grafu lze však vidět, že obsah stoupal velmi rychle v prvních čtyřech hodinách macerace a následně začal klesat. Dle mého názoru začal obsah klesat v důsledku zvyšující se aktivity mikroorganismů a s ní spojené spotřeby dusíku. Rmut byl chlazen na 5°C, byl ošetřen dávkou oxidu siřičitého, ale i přesto se v něm pravděpodobně začaly kvasinky rychle množit. Byl to nepochybně následek výskytu plísně šedé na hroznech.



Graf 7: Vývoj obsahu YAN u nechlazené varianty odrůdy „Rulandské bílé“.

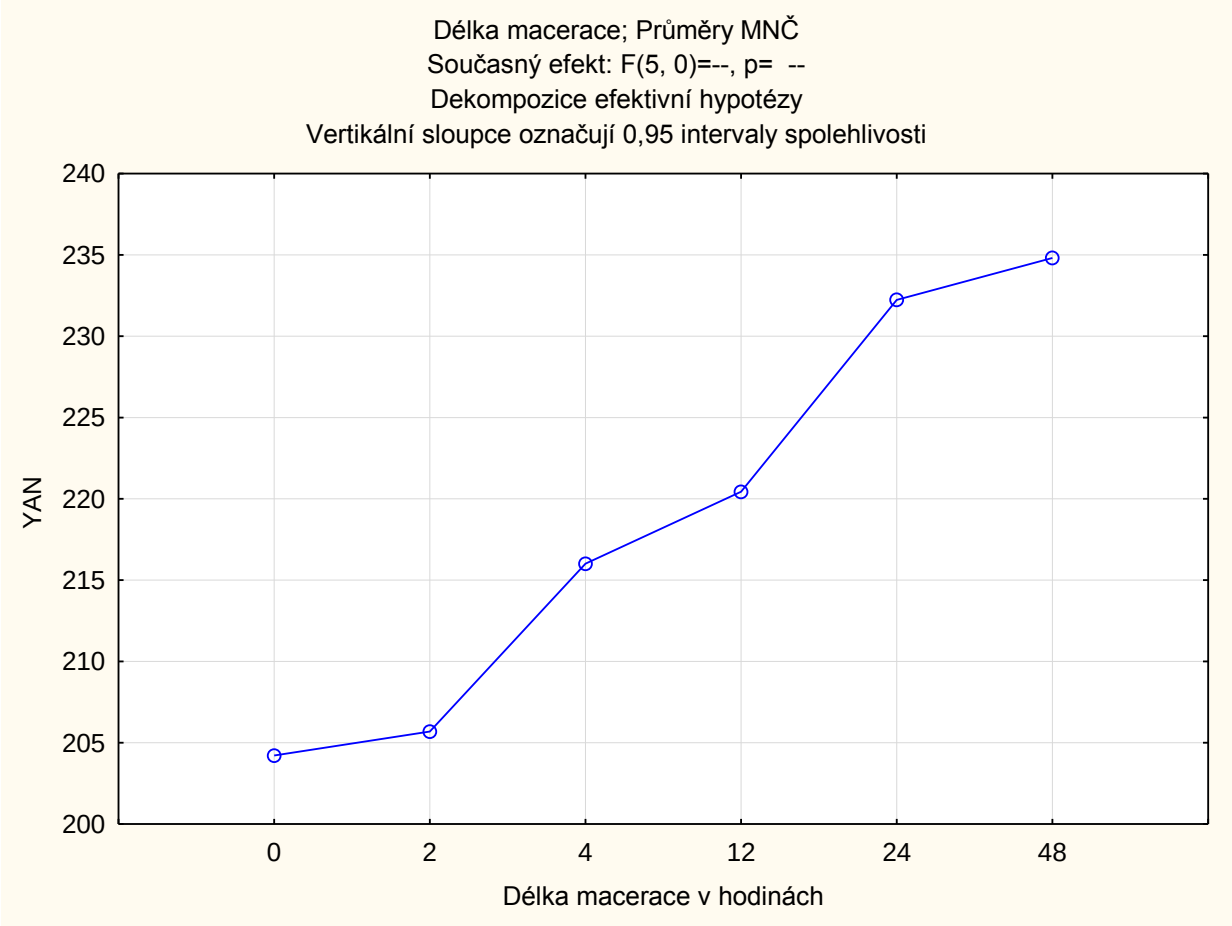


Graf 8: Vývoj obsahu YAN u chlazené varianty odrůdy „Rulandské bílé“.

U obou variant odrůdy „Rulandské bílé“ jsou výsledky bohužel velmi nesourodé. U nechlazené varianty je vidět, že obsah asimilovatelného dusíku nejprve rychle klesal, poté začal mírně stoupat. U chlazené varianty jde dokonce o kolísání hodnoty, které nevypovídá nic

o vlivu macerace. Odrůda „Rulandské bílé“ má tenčí slupku než „Tramín“, a plíseň šedá ji proto postihla více. I když podle mého názoru míra výskytu plísně nebyla neslučitelná s výrobou kvalitního vína, evidentně měla velký vliv na výsledky pokusu. Lze jednoznačně říct, že hrozny napadené plísní je nejvhodnější co nejrychleji zpracovat a vylisovat. Macerace takto napadených hroznů není vhodná, zejména z důvodu rychlého množení nežádoucích mikroorganismů a také zrychlené oxidace vlivem oxidačních enzymů.

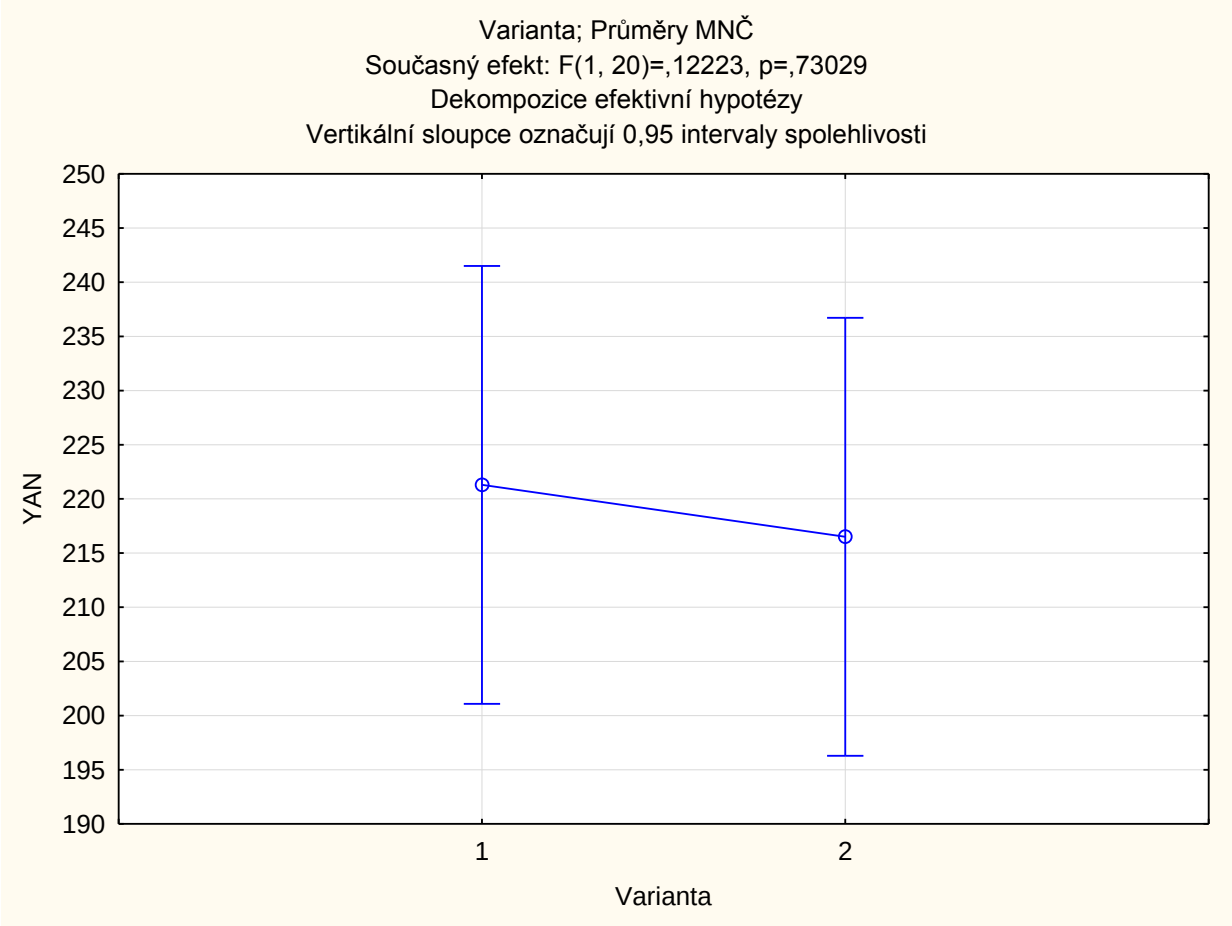
Z grafu lze také usoudit, že obsah asimilovatelného dusíku byl u odrůdy „Rulandské bílé“ nízký. Ve vinici byly po dobu celé vegetace poznat známky deficitu vody. Srážky byly v průběhu vegetace slabé, vinice je navíc v prudkém svahu a meziřadí jsou kvůli riziku eroze ozeleněné. Slabý vzrůst následkem sucha považuji za hlavní důvod nízkého obsahu asimilovatelného dusíku v hroznech.



Graf 9: Obsah asimilovatelného dusíku v průběhu macerace.

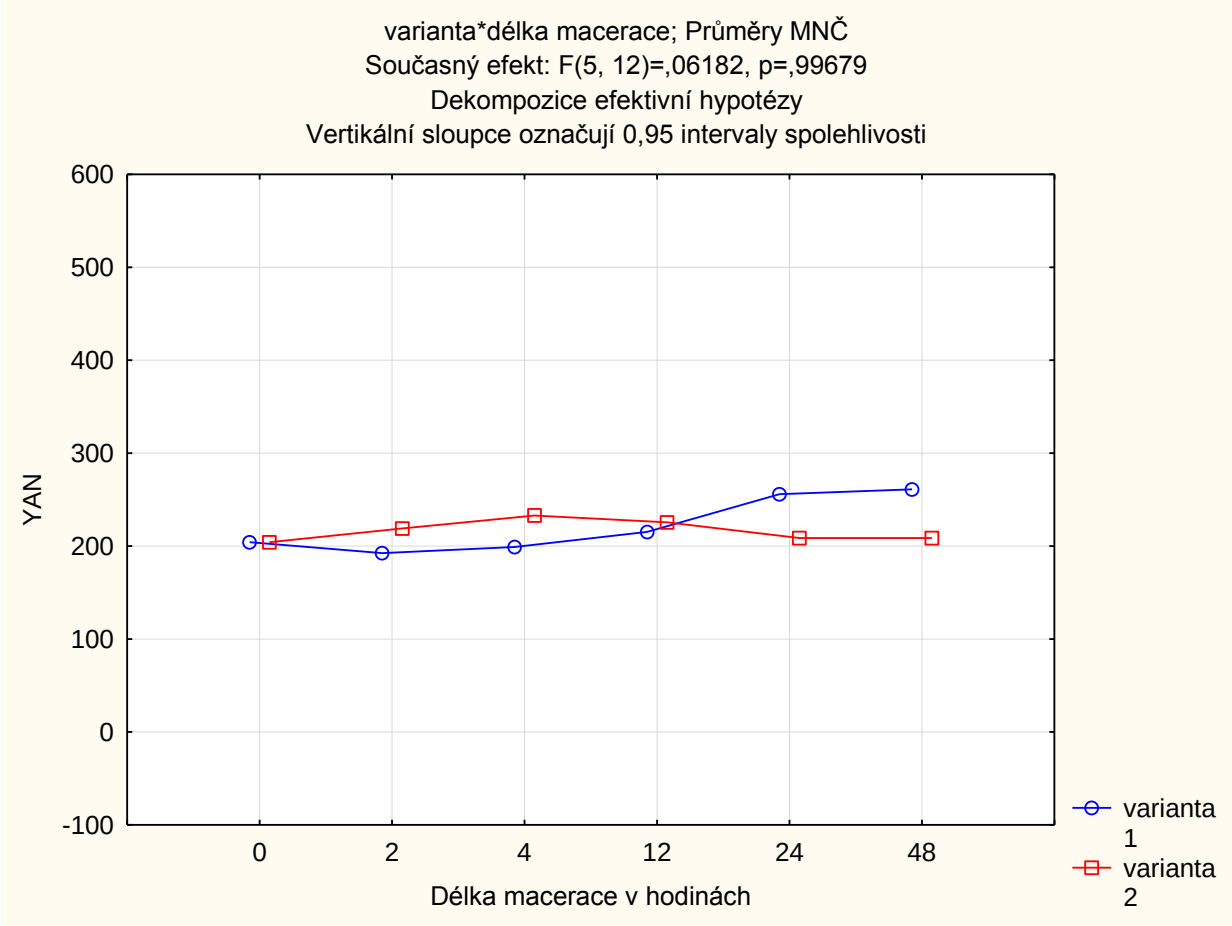
Graf 9 vytvořený v programu Statistika ukazuje souhrnné výsledky vlivu délky macerace na obsah asimilovatelného dusíku v moštu. Přestože u jednotlivých variant nejde zcela jasně rozpoznat zvyšující se obsah asimilovatelného dusíku, souhrn ukázal, že macerace má

nepochybně příznivý vliv na obsahové hodnoty asimilovatelného dusíku v moštech. Jeho obsah stoupal v celém průběhu 48 hodinové macerace.

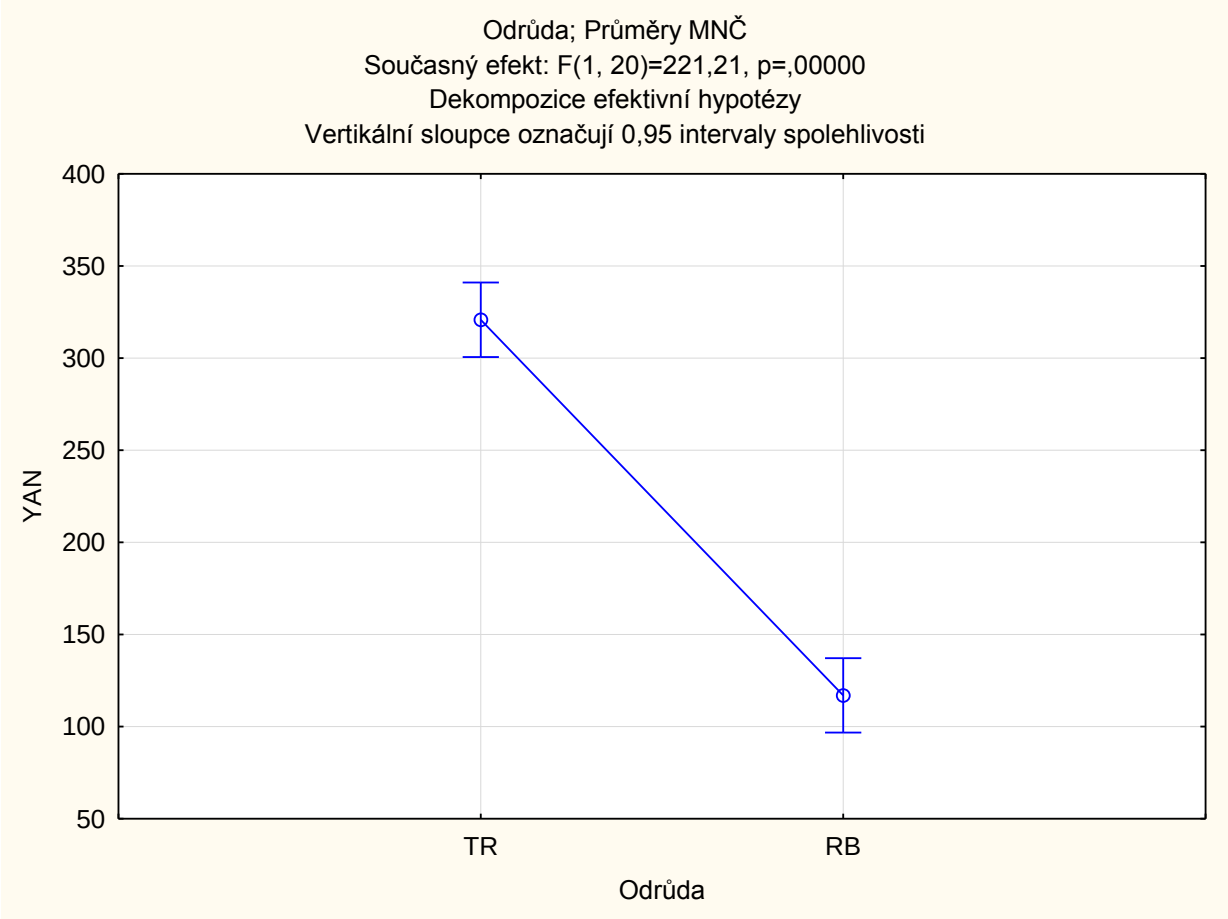


Graf 10: Porovnání obsahu asimilovatelného dusíku u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty.

Při porovnání chlazené a nechlazené varianty lze konstatovat, že u chlazené varianty je obsah asimilovatelného dusíku mírně nižší. Podle mého předpokladu by obsah asimilovatelného dusíku u chlazené varianty měl stoupat pomaleji a ke konci macerace by se hodnoty u chlazené a nechlazené varianty měly vyrovnávat. Následující graf ukázal zcela opačný trend. Obsah asimilovatelného dusíku u chlazené varianty stoupal rychleji v prvních hodinách macerace a ke konci macerace klesal. Naopak u nechlazené varianty obsah výrazně stoupal až v druhé polovině 48 hodinové macerace.



Graf 11: Vývoj obsahu asimilovatelného dusíku u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty.



Graf 12: Porovnání obsahu asimilovatelného dusíku u jednotlivých odrůd.

Při porovnání obsahu asimilovatelného dusíku u jednotlivých odrůd vidíme velký rozdíl. U „Tramínu“ se obsahové hodnoty pohybovaly okolo 300 mg/l^{-1}, což je hodnota dostačující pro správnou fermentaci. Avšak u „Rulandského bílého“ se obsahové hodnoty pohybovaly kolem 100 mg/l^{-1}, což je hodnota velmi nízká a může způsobovat problémy při fermentaci. Tyto skutečnosti se nakonec ukázaly i v reálném provozu. U „Tramínu“ proběhla alkoholová fermentace bez problémů. Nedostatek asimilovatelného dusíku u „Rulandského bílého“ se projevil ve velmi dlouhé alkoholové fermentaci, která se však na víně nijak negativně neprojevila.

5. Diskuze

Předfermentační macerace rmutu je v posledních letech velmi oblíbená a čím dál častěji používaná technologie. S lepší vybaveností vinařských podniků se otevírají nové možnosti, kdy lze maceraci co nejlépe využít. Macerace se tedy logicky také stává čím dál častěji směrem výzkumu a v posledních letech se jí věnovalo několik prací. Práce se věnovaly například vlivu doby macerace na antiradikálovou aktivitu moštů révy *(Strýček, 2014; Durdovanský, 2013),* vlivu studené macerace na obsahové látky v moštu *(Kaspar, 2013),* vlivu délky macerace na obsah asimilovatelného dusíku *(Miklovič, 2013),* a vlivu před-fermentační macerace na obsahové látky v moštu *(Sapík, 2014).*

Všechny tyto práce potvrdily silný vliv předfermentační macerace na obsahové látky v moštu. Častým sledovaným parametrem je obsah titrovatelných kyselin a pH. Většina pokusů potvrdila, že obsah titrovatelných kyselin, zejména kyseliny vinné, během macerace klesá a pH vzrůstá. Tuto skutečnost potvrzují i zahraniční autoři *(Heredia et al., 2010; Ribéreau, 2006; Durbourdieou et al., 2006).* Při studiu vlivu macerace na antiradikálovou aktivitu moštu bylo zjištěno, že hodnota antiradikálové aktivity moštu významně stoupá v prvních 12 hodinách macerace *(Durdovanský, 2013).*

Miklovič *(2013)* se zabýval vlivem doby macerace na obsah asimilovatelného dusíku v moštech. Jeho pokus byl uskutečněn v roce 2011 a 2012 v Malokarpatské oblasti na Slovensku. V pokusu sledoval 2 odrůdy, „Ryzlink vlašský“ a „Cabernet Sauvignon“. Zjistil, že mezi jednotlivými ročníky byl velký rozdíl, což bylo pravděpodobně způsobeno extrémním suchem v roku 2012. V ročníku 2011 byla hodnota asimilovatelného dusíku u „Ryzlinku vlašského“ ihned po pomletí okolo 200 mg/l^{-1} a po 12 hodinách macerace dosáhla hodnoty 250 mg/l^{-1}. Ve stejném roce u odrůdy „Cabernet Sauvignon“ byla hodnota ihned po pomletí okolo 220 $mg/^{-1}$ a po 12 hodinové maceraci přibližně o 30 mg/l^{-1} vyšší. V ročníku 2012 dosáhla hodnota u „Ryzlinku vlašského“ ihned po pomletí pouhých 60 mg/l^{-1}, po 12 hodinách macerace se hodnota zvýšila a 30 mg/l^{-1} a po 48 hodinách se zvýšila celkově až o 50 mg/l^{-1}. U „Cabernet Sauvignonu“ byla počáteční hodnota 150 mg/l^{-1} a po 12 hodinách macerace se zvýšila o 50 mg/l^{-1}.

Z měření u obou ročníků lze poznat, že hodnota asimilovatelného dusíku stoupala významně v prvních 12 hodinách macerace a dále už stoupala pouze mírně. Celkově jsou výsledky experimentu více názorné než výsledky mého experimentu. Stoupající trend obsahu

asimilovatelného dusíku je ve všech variantách jasný a snadno rozpoznatelný. Mírnou nesourodost svých výsledků přisuzuji velmi komplikovanému ročníku 2014.

Zajímavé je srovnání vlivu teploty macerovaného rmutu na obsahové látky v moštu. Kaspar *(2013)* se zabýval porovnáním chlazené (4°C) a nechlazené (20°C) macerace u odrůd „Sauvignon“, „Tramín“ a „Zweigeltrebe“. Zjistil, že teplota macerace má vliv na všechny měřené parametry moštu. Při porovnání výsledků této práce s mým experimentem jsem zjistil, že všechny výsledky se neshodují. Například obsah kyselin byl u mého experimentu vyšší u chlazené varianty, naopak u měření, které prováděl Kaspar *(2013),* je u bílých odrůd vyšší obsah kyselin u nechlazené varianty. Při měření celkových polyfenolů a celkových antokyanů byly naměřeny vyšší hodnoty u nechlazené varianty. Měření asimilovatelného dusíku ukázalo podobné výsledky jako u mého experimentu, to znamená, že u chlazené varianty byl obsah nižší. Můžeme tedy konstatovat, že nižší teplota macerace zpomaluje extrakci některých látek do moštu.

6. Závěr

V této diplomové práci byl proveden experiment s odrůdami „Tramín“ a „Rulandské bílé“. Hrozny těchto odrůd se po odstopkování a pomletí macerovaly po dobu 48 hodin. První varianta byla nechlazená a teplota rmutu byla ovlivněna hlavně okolní teplotou, která se pohybovala okolo 15°C. Druhá varianta byla chlazená pomocí suchého ledu na 5°C.

Výsledky experimentu byly podle mého názoru částečně ovlivněné zdravotním stavem hroznů. Ročník 2014, v němž experiment probíhal, byl velmi problematický kvůli silným dešťovým srážkám v době zrání hroznů a následnému silnému napadení hroznů plísní šedou. U hroznů napadených plísní není macerace vhodná zejména kvůli rychlému množení nežádoucích mikroorganizmů a také zrychlené oxidaci. Ve slupce, která je napadená plísní, jsou také degradované aromatické látky, takže macerace téměř postrádá význam.

I přes komplikovaný ročník a možné ovlivnění výsledků je po statistickém vyhodnocení potvrzeno, že macerace má vliv na obsah asimilovatelného dusíku v moštech. Jeho obsah hlavně u nechlazených variant se v průběhu macerace zvyšoval.

Obsah asimilovatelného dusíku se stává jedním z hlavních kvalitativních parametrů hroznů. Je ovlivněn odrůdou, stářím vinice, podnoží, ozeleněním vinice, zatížením keřů a počasím. Počasí se v poslední době, kdy jsou stále častěji problémy se suchem, stává velmi důležitým faktorem. Například v ročníku 2012, který byl velmi suchý, měly hrozny velmi nízký obsah asimilovatelného dusíku, což způsobovalo problémy při alkoholové fermentaci. Výživa se dá do moštu přidat uměle ve formě amonných iontů. Tomu se ale část vinařů chce vyhnout, protože součástí jejich filozofie je vyrábět vína co nejpřirozeněji, to znamená co nejvíc omezit přidávání aditiv. Tito vinaři musí hledat alternativní cesty jak zvýšit obsah asimilovatelného dusíku. Macerace se určitě nabízí jako jedna z těchto možností. Tato práce i dřívější experimenty ukázaly, že obsah asimilovatelného dusíku se dá macerací zvýšit. Díky maceraci se v moštu navíc zvýší obsah polyfenolů a antokyanů, zvýší se antiradikálová aktivita moštu, zvýší se extrakce aromatických látek a dá se ovlivnit obsah kyselin a pH.

V dalších výzkumech by bylo vhodné věnovat se ještě více vlivu teploty macerace na obsah asimilovatelného dusíku v moštu. I když už to bylo součástí této práce, kvůli ovlivnění průběhu macerace způsobenému zdravotním stavem hroznů, nebyl vliv teploty prokazatelně dokázán. Díky lepšímu vybavení vinařských podniků je studená macerace v poslední době hojně využívána, a je tedy nutností znát, jak ovlivňuje všechny obsahové látky v moštu.

7. Souhrn

Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné

Tato diplomové práce se zabývá vlivem doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné. V literární části je obecně popsána role dusíku v révě vinné a problematika asimilovatelného dusíku, tedy dusíku využitelného kvasinkami. V experimentální části byly vybrány 2 odrůdy, „Tramín“ a „Rulandské bílé“. Hrozny těchto odrůd byly po odstopkování a pomletí macerovány 48 hodin. Od každé odrůdy byly 2 varianty, první nechlazená a druhá chlazená na 5°C. Odběr vzorků probíhal po 0, 2, 4, 12, 24 a 48 hodinách macerace a u vzorků byl následně měřen obsah asimilovatelného dusíku a další parametry. Tyto výsledky byly statisticky vyhodnoceny a byl zkoumán vliv macerace na obsah asimilovatelného dusíku a jiných obsahových látek v moštu.

Klíčová slova: asimilovatelný dusík, dusík, macerace, studená macerace

8. Resume

Influence of time of maceration on the amount of yeast assimilable nitrogen in must of grape vine.

This diploma thesis is deal with influence of maceration period on the amount of yeast assimilable nitrogen that it is in wine must. In literary part I generally described role of nitrogen in vine and yeast assimilable nitrogen. In experimental part were choosen two varieties, „Tramín“ and „Rulandské bílé“. The grapes of these varieties were macerated for 48 hours after stemming and milling. Both of these varieties were made in two different ways, the first was uncooled and the second was cooled to 5 degrees. Sampling was carried out after 0, 2, 4, 12, 24 and 48 hours of maceration and volume of yeast assimilable nitrogen and other parameters were measured in the samples. These results were evaulated statistically and influence of maceration period on the amount of yeast assimilable nitrogen and other volumetric substances in must of grape vine were researched.

Key words: yeast assimilable nitrogen, nitrogen, maceration, cold maceration

9. Seznam použité literatury

1. ALVAREZ, I.; ALEIXANDRE, J. L.; GARCIA, M. J.; LIZAMA, V. Impact of prefermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines. *Analytica Chimica Acta*. 2006, roč. 563, 1-2, s. 109-115. ISSN 00032670.DOI: 10.1016/j.aca.2005.10.068. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267005018441
2. *BAKKER, J.; CLARKE, R.. Wine flavour chemistry. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, 2012, xix, 418 p. ISBN 978-144-4330-427.*
3. BAROŇ, M. Předfermentační macerace v technologii vína a její vliv na obsahové látky. *Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hodpodářství a obchod vínem /. Velké Bílovice*: Svaz vinařů České republik, 2009, 102 (2009), č. 12, s. 2. ISSN 1212-7884.
4. BAROŇ, M. Vliv asimilovatelného dusíku na průběh fermentace moštů révy vinné. *Disertační práce.* Lednice, 2010. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Marie Kyseláková.
5. BELL, S. – J., & HENSCHKE, P. A., (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research,* 11, 242-295.
6. BELY, M., (1990). Description of alcoholic fermentation kinetics: its variability and signifikance. *Am. J. Enol. Vitic*,. 41, 319 – 324 str
7. BERTHIER, L., MARCHAL, R., DEBRAY, H., BONNET, E., and JEANDET MAUJEAN, A. J., (1999). Isolation of isolectins from Vitis vinifera L. Cv. Chardonnay grape berries. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2193 – 2197.
8. BEZENGER M., NAVARO J.M., Grape juice fermentation: Effects of initial nitrogen concentration on culture parametrs, 1987, *Sci. Aliments*
9. BUOLOUMPASI, E., SOUFLEROS, E. H., TSARCHOPOULOS, C., & BILIADERIS, C. G., (2002). Primary amino acid composition and its use in discrimination of Greek red wines with regard to variety and cultivation region. *Vitis, 4*, 195-202
10. CANALS, R.; LLAUDY, M. C.; VALLS, J.; CANALS, J. M.; ZAMORA, F. Influence of Ethanol Concentration on the Extraction of Color and Phenolic Compounds from the Skin and Seeds of Tempranillo Grapes at Different Stages of Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, roč. 53, č. 10, s. 4019-4025. ISSN 0021-8561. DOI: 10.1021/jf047872v. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf047872v

11. CASTOR, J. G. B., (1952). The free amino acids of musts and wines. II The fate of amino acids of must during alcoholic fermentation. *Food Research,* 18(1 – 6), 146 – 151.
12. COMBEE, B. G., 2001: Ripening berries – a critical issue. *Australian Viticulture,* 5: 28-33
13. DHARMADHAKARI, M., (2001). Nitrogen Metabolism During Fermentation, *Missouri: Missouri State Fruit Experiment Station,* Dostupný z WWW: http://www.extension.iastate.edu/wine/sites/www.extension.iastate.edu/files/wine/NitrogenMetabolismDuringFermentation.pdf, b
14. DICEY, M. The effect of cold maceration with and without sulphur dioxide on pinot noir wine.. *Lincoln University, 1996. Abstract of a thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of M.Appl.Sc. Lincoln University.*
15. DOHNAL T., KRAUS V., PÁTEK J., Moderní vinař. *Státní zemědělské nakladatelství, 1975,* str.213
16. DURBOURDIEU, D., OLLIVIER Ch., BOIDRON, J.N. 1986. *Conn. Vigne Vin*, 20:1, 53-76.
17. DURDOVANSKÝ D., Vliv doby macerace na antiradikálovou aktivitu moštů révy vinné. *Diplomová práce, Lednice 2013, Mendelova univerzita v Brně*
18. HEATHERBELL, D.; DICEY, M.; GOLDSWORTHY, S.; VANHANEN, L. 1994. Effect of Prefermentation Cold Maceration on the Composition, Color and Flavor of Pinot Noir Wine. In: *Proceedings of the Fourth International Symposium on Cool Climate Viticulture & Enology*, pp VI-10 to VI-17. Lincoln University, PO Box 84, Canterbury, New Zealand (1994).
19. FARKAŠ, J. (1980). *Technologie a biochemie vína.* Státní nakladatelství technické literatury
20. GARCIA-ROMERO, E.; EREZ-COELLO, M.; CABEZUDO, M. D.; SANCHEZMUNOZ, G.; MARTIN-ALVAREZ, P.J. Fruity flavor increase of Spanish Airen white wines made by brief fermentation skin contact / Aumento del aroma afrutado de los vinos blancos Airen fermentados en presencia de hollejos. *Food Science and Technology International.* 1999, roč. 5, č. 2, s. 149-157. ISSN 1082-0132. DOI: 10.1177/108201329900500204.Dostupné z: http://fst.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/108201329900500204
21. GOMEZ-PLAZA, E.; GIL-MUNOZ, R.; LOPEZ-ROCA, J. M.; MARTINEZ, A. Color and Phenolic Compounds of a Young Red Wine. Influence of Wine-Making

Techniques, Storage Temperature, and Length of Storage Time. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, roč. 48, č. 3, s. 736-741. ISSN 0021-8561. DOI:10.1021/jf9902548. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9902548

22. HARDIE, W.J., AGGENBACH, S.J., 1996*:* Effect of site, season and viticultural practices on grape seed development. *Australian Journal af Grape and Wine Research,* 2: 21-24
23. HÉBERGER, K., CSOMÓS, E., & SIMON – SARKADI, L., (2003). Principal component and linear discriminant analyses of free amino acids and biogenic amines in Hungarian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 8055-8060
24. HENCHKE, P. A., & JIRANEK, V., (1993). Metabolism of nitrogen compounds. In G. H. Fleet (Ed.), *Wine microbiology and biotechnology* (pp. 77-164). Victoria, Australia: Harwood Academic Publishers.
25. HEREDIA, F. J.; ESCUDERO-GILETE, M. L.; HERNANZ, D.; GORDILLO, B.; MELENDEZ-MARTINEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; GONZÁLEZ-MIRET, M. L. Influence of the refrigeration technique on the colour and phenolic composition of Syrah red wines obtained by pre-fermentative cold maceration. *Food Chemistry*. 2010, roč. 118, č. 2, s. 377-383. ISSN 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.04.132. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881460900615
26. HERNANZ D. et al (2007). Phenolic composition of white wines with a prefermentative maceration at experimental and industrial scale. *Journal of Food engineering*, stránky 327-335
27. HUANG, Z., & OUGH, C. S., (1991). Amino acid profiles of commercial grape juices and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42, 261 – 267
28. HUBÁČEK V., KRAUS V*., Hrozny a víno z vinice i zahrady*. Státní zemědělské nakladatelství v Praze roku 1982. str. 229
29. JACKSON, RONALD S. Wine science: principles and applications. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2008. ISBN 978-012-3736-468.
30. KASPAR A.Vliv studené macerace na obsahové látky moštu révy vinné. *Bakalářská práce, Lednice 2013, Mendelova univerzita v Brně*
31. KRAUS V., KOPEČEK J., *Réva a víno v Čechách a na Moravě*. RADIX spol. s. r. o. 1999
32. KENNEDY, J.A., 2008: Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Scielo 35(2): 107-120. 2008*
33. KOUTNÍK, V., (1997*). Chemie*. ISBN 80-7157-143-1

34. MAARSE H., VISSCHER C.A., Volatile compounds in food: qualitative and quantitative data. *Food analysis Institute*
35. MIKLOVIČ L., Vliv doby macerace na množství asimilovatelného dusíku u moštů révy vinné. *Diplomová práce, Lednice 2013, Mendelova univerzita v Brně*
36. MORRENO - ARRIBAS, *M. V., & Polo, M. C., (2009). Wine chemistry and biochemistry. New York: Springer.*
37. PALOMO, E. SANCHEZ; PEREZ-COELLO, M. S.; DIAZ-MAROTO, M. C.; GONZALEZ VINAS, M. A.; CABEZUDO, M. D. Contribution of free and glycosidicallybound volatile compounds to the aroma of muscat and petit grainsâ wines and effect of skin contact. *Food Chemistry*. 2006, roč. 95, č. 2, s. 279-289. ISSN 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.01.012. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814605000774
38. PARENTI, A.; SPUGNOLI, P.; CALAMAI, L.; FERRARI, S.; GORI, C. Effects of cold maceration on red wine quality from Tuscan Sangiovese grape. *European Food Research and Technology*. 2004, roč. 218, č. 4, s. 360-366. ISSN 1438-2377. DOI: 10.1007/s00217-003-0866-1. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s00217-003-0866-1
39. PARLEY, A. 1997. The Effect of Pre-Fermentation Enzyme Maceration on the Extraction and Stability of colour in Pinot noir wine. http://www.thewinefly.com/. Accessed 10th May 2006.
40. PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, c2011, 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2.
41. PEINADO R. A. (2004) Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to prefermetative. *Food Chemistry*, 4, stránky 585-590.
42. RIBÉREAU , G. e. (2006). *Handbook of enology, Volume 2: The chemistry of wine. Stabilization and Treatments, 2. vydání.* England: John Wiley&Sons
43. RIBÉREAU-GAYON, Pascal, Denis DUBOURDIEU a Bernard DONÈCHE. *Handbook of enology*. 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley, c2006-, 2 v. ISBN 04-700-1037-1.
44. RICHTER, R., & HLUŠEK, J., (2003). *Půdní úrodnost*. ISBN 80-7271-130-X
45. ROBINSON, S.P., DAVIES, C., 2000: Molecular biology of grape berry ripening. *Australian Journal of the Science of Food Research*, 6: 175-188

46. SACCHI, K. L.; BISSON, L. F.; ADAMS, D. O. A review of the effect of wine- making techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2005, č. 56, s. 198-206.
47. SALINAS, M.R., GARIJO, J., PARDO, F., ZALACAIN, A., ALONSO, G.L. 2005. Influence of prefermentative maceration temperature on the colour and the phenolic and volatile composition of rosé wines. Alonso. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1527–1536.
48. SAPÍK M., Vliv před-fermentační macerace na obsahové látky moštu révy vinné. *Diplomová práce, Lednice 2014, Mendelova univerzita v Brně*
49. SOUFLEROS, E. H., BOULOUMPASI, E., TSARCHOPOULOS, C., BILIADERIS, C. G., (2003). Primary amino acid profiles of Greek white wines and their use in classification according to variety, origin and vintage. *Food chemistry.* vol. 80, pp. 261 – 273. ISSN 0308 – 8146.
50. STEIDL, R., (2002). *Sklepní hospodářství*. Valtice: Radix, spol. s.r.o, ISBN 80-903201-0-4.
51. STRÝČEK J., Vliv délky macerace na antiradikálovou aktivitu moštů révy. *Bakalářská práce, Lednice 2014, Mendelova univerzita v Brně*
52. VALERO, E., MILLÁN, C., ORTEGA, J. M., & MAURICIO, J. C., (2003). Concentration of amino acids in wine after the end of fermentation by Saccharomyces cerevisiae strain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 830-835
53. WATSON, B.; PRICE, S.; PING CHEN, H.; YOUNG, S.; LEDERER, C.; MCDANIEL, M. Fermentation Practices in Pinot Noir: Effects on Color, Phenols, and Wine Quality. In: Proceedings of the Fourth International Symposium on Cool Climate Viticulture & Enology, pp VI-18 to VI-23. *Department of Food Science and Technology, Oregon State University and Price Research Services and ETS Laboratories* (1994).
54. http://www.castellodiamorosa.com/blog/Red-Wine-Barrel-Fermentation
55. http://www.biopro.cz

10. Seznam obrázků, tabulek a grafů

Obrázek 5: Stavba a složení bobule

Obrázek 6: Tvorba bobule a změny obsahových látek podle Coomba

Obrázek 7: Pelety suchého ledu a jeho sublimace

Obrázek 8: Spektrometr Alpha FT – IR

Tabulka 1: Analytické hodnoty moštu odrůdy „Tramín“

Tabulka 2: Analytické hodnoty moštu odrůdy „Rulandské bílé“.

Graf 1: Srovnání obsahu titrovatelných kyselin v moštech jednotlivých odrůd.

Graf 2: Vývoj kyseliny vinné a kyseliny jablečné v průběhu fermentace

Graf 3: Obsah titrovatelných kyselin u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty

Graf 4: pH u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty

Graf 5: Vývoj obsahu YAN u nechlazené varianty odrůdy „Tramín“

Graf 6: Vývoj obsahu YAN u chlazené varianty odrůdy „Tramín“

Graf 7: Vývoj obsahu YAN u nechlazené varianty odrůdy „Rulandské bílé“

Graf 8: Vývoj obsahu YAN u chlazené varianty odrůdy „Rulandské bílé“

Graf 9: Obsah asimilovatelného dusíku v průběhu macerace

Graf 10: Porovnání obsahu asimilovatelného dusíku u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty

Graf 11: Vývoj obsahu asimilovatelného dusíku u nechlazené (1) a chlazené (2) varianty

Graf 12: Porovnání obsahu asimilovatelného dusíku u jednotlivých odrůd